

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS
ARCHIV
FÜR
**EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE
UND PHARMAKOLOGIE**

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

Dr. L. HEILMEYER

PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

Dr. W. HEUBNER

PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
HEIDELBERG

Dr. L. LENDLE

PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

222. BAND

MIT 205 TEXTABBILDUNGEN



BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG

1954

Alle Rechte vorbehalten.

Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages
ist es auch nicht gestattet, einzelne Beiträge oder Teile daraus
auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.
Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg.

Printed in Germany.

Druck : Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH.

Inhalt des 222. Bandes.

	Seite
Ahmad, N. D., and K. Aterman, Liver Function and Hepatic Necrosis due to Deficient Diet. With 4 figures in the text	273
Althoff, K. H., s. Braun, W., und R. Taugner.	
Aterman, K., s. Ahmad, N. D.	
Baerwolff, E., und W. Heubner, Über die Dosenschwelle osmotischer Reize.	393
Benstz, W., Interferometrische Untersuchungen zur Stoffwechselwirkung synthetischer Antihistamine. Mit 2 Textabbildungen	575
Berkán, D., s. Pulewka, P., und Sch. Kaymaktschalan.	
Braun, W., K. H. Althoff und R. Taugner, Bubble flow meter mit automatischer Registrierung. Mit 3 Textabbildungen.	529
Creutzfeldt, W., und W. Schmidt, Über die Wirkung von Kobaltchlorid auf den Blutzucker und die Pankreasinseln bei verschiedenen Nagetieren. Mit 7 Textabbildungen.	487
Dengler, H., s. Sielaff, H. J.	
Enders, A., Die Wachstumsfähigkeit von Ratten nach calorischer Unterernährung und bei chronischen Vergiftungen	555
Fazekas, I. Gy., und B. Rengei, Reduktionswirkung des Knoblauchs hinsichtlich der Blutalkoholuntersuchung. Mit 1 Textabbildung	337
Förster, W., und E. Muscholl, Der Einfluß von BAL, Methionin und Cystin auf die Schilddrüsenhyperplasie nach kurzfristiger Gabe von Methylthiouracil. Mit 2 Textabbildungen.	388
—, —, Der Einfluß von BAL und Methionin auf die Schilddrüsenhyperplasie nach chronischer Gabe von Methylthiouracil. Mit 3 Textabbildungen.	408
Gänshirt, H., H. Hirsch, W. Krenkel, M. Schneider und W. Zylka, Über den Einfluß der Temperatursenkung auf die Erholungsfähigkeit des Warmblütergehirns. Mit 8 Textabbildungen	431
Giertz, H., s. Hahn, F., und A. Lange.	
Greif, K., s. v. Metzler, A.	
Habermann, E., s. Neumann, W.	
Hager, W., Curarewirkungen auf das Froschherz und ihre Beeinflussung durch Narkotica (Urethan). Mit 5 Textabbildungen	262
Hahn, F., A. Lange und H. Giertz, Anaphylaktoide Reaktionen durch künstliche Blutersatzstoffe. Mit 1 Textabbildung	603

Hartmann, F., und A. Nickel, Vergleichende Untersuchungen über die lipotrope Wirkung von Cholin und Methionin sowie einiger ihrer Verbindungen an der CCl_4 -vergifteten Ratte. Mit 1 Textabbildung	518
Harwart, A., s. Langecker, H., und K. Junkmann.	
Heinrichs, D., und W. Rummel, Rhythmische Kontraktionen des Ratten-Uterus und Curarewirkungen. Mit 8 Textabbildungen	284
Heubner, W., s. Baerwolff, E.	
Hinrichs, K., H. Poppe, H. Steyer und H. Weidemann, Experimentelle Untersuchungen über die Verteilung von Thiosemicarbacid mit Hilfe eines S^{35} markierten Moleküls. III. Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen	513
—, s. Poppe, H., H. Steyer und H. Weidemann.	
Hirsch, H., s. Gänshirt, H., W. Krenkel, M. Schneider und W. Zylka.	
Höfler, W., s. Pichotka, J., und Pichotka, J., und I. Reisner.	
Jung, F., H. Matthies und K. Onnen, Über Stoffwechselleistungen von roten Blutkörperchen. II. Einfluß methämoglobinfreier Zellen auf die Methämoglobinerückbildung. Mit 4 Textabbildungen	474
Junkmann, K., s. Langecker, H., und A. Harwart.	
Kaymaktschalan, Sch., s. Pulewka, P., und D. Berkan.	
Kewitz, H., Zur Bedeutung des Acetylcholins als Überträgersubstanz sympathischer Ganglien. Mit 7 Textabbildungen	323
—, und H. Reinert, Wirkung verschiedener Sympathomimetica auf die chemisch und elektrisch ausgelöste Erregung des oberen Halsganglions. Mit 3 Textabbildungen.	311
—, —, Differenzierung zwischen der Acetylcholin-erregung und der Überträgerfunktion sympathischer Ganglien mit Hilfe verschieden zusammengesetzter Durchströmungsflüssigkeiten. Mit 6 Textabbildungen	315
Knauff, H.-G., s. Schmid, E.	
Krenkel, W., s. Gänshirt, H., H. Hirsch, M. Schneider und W. Zylka.	
Krüskemper, H.-L., und G. Schulze, Stoffwechseluntersuchungen bei langdauernder Cholesterinfütterung am Kaninchen. I. Mitteilung: Über das Verhalten von Eiweißfraktionen, Lipiden und Fermenten im Serum. Mit 1 Textabbildung	562
Lange, A., s. Hahn, F., und H. Giertz.	
Langecker, H., A. Harwart und K. Junkmann, 3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäure als Röntgenkontrastmittel	584
Laves, W., Antagonistische Wirkungen von Alkohol und Cortison auf die Eosinophilenzahl des peripheren Blutes. Mit 3 Textabbildungen	482
Matthies, H., s. Jung, F., und K. Onnen.	
Marquart, M., s. Moeller, J.	
v. Metzler, A., und K. Greeff, Über den Mechanismus der durch K-Strophanthin verursachten Nebennieren- und Herzhypertrophie	352
Moeller, J., und M. Marquart, Die tubuläre Insuffizienz bei der Salyrganvergiftung	302
Muscholl, E., s. Förster, W.	
Neumann, W., und E. Habermann, Beiträge zur Charakterisierung der Wirkstoffe des Bienengiftes. Mit 9 Textabbildungen	367
Nickel, A., s. Hartmann, F.	
Oeff, K., Papierelektrophoretische Untersuchung der Bindung von radioaktivem Biliselektan an Serumalbumin. Mit 3 Textabbildungen	523
Onnen, K., s. Junk, F., und H. Matthies.	
Osterloh, G., Zur Wirkungssteigerung von Succinyl-bis-cholin und Dekamethonium durch Cholin. Mit 5 Textabbildungen	360

Pichotka, J., und W. Höfler, Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Systemen. II. Die Wasserbindung in pflanzlichem Gewebe (Kartoffel). Mit 2 Textabbildungen	40
—, —, und I. Reissner, Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Systemen. I. Messung der Wasserbindung in nicht homogenen Systemen mit Hilfe der thermischen Analyse. Mit 5 Textabbildungen	450
Poppe, H., K. Hinrichs, H. Steyer und H. Weidemann, Experimentelle Untersuchungen über die Höhe der Ausscheidungen von Thiosemicarbazonen durch Schleimhäute. Mit 2 Textabbildungen	598
—, s. Hinrichs, K., H. Steyer und H. Weidemann.	
Pulewka, P., D. Berkan und Sch. Kaymaktsehan, Erklärung der Temperaturabhängigkeit der resorptiven toxischen Wirkung des Novocains. Mit 3 Textabbildungen.	293
Reinert, H., s. Kewitz, H.	
Rengei, B., s. Fazekas, I. Gy.	
Rummel, W., s. Heinrichs, D.	
—, und Th. Schmitz, Die Anticurarewirkung des Alkohols. Mit 4 Textabbildungen	257
—, und R. Schulz, Gegenüberstellung von blockierenden und deblockierenden Substanzen am Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte. I. Mitteilung. Mit 5 Textabbildungen	533
—, —, Gegenüberstellung von blockierenden und deblockierenden Substanzen am Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte. II. Mitteilung. Mit 7 Textabbildungen	591
Schlosser, L., s. Zetler, G.	
Schmid, E., und H.-G. Knauff, Untersuchungen am ermüdeten und gelähmten oberen Cervicalganglion. Die Wirkung von Nicotin, Anabasin, Cystin und Lobelin. Mit 3 Textabbildungen	330
Schmidt, W., s. Creutzfeldt, W.	
Schmitz, Th., s. Rummel, W.	
Schneider, M., s. Gänshirt, H., H. Hirsch, W. Krenkel und W. Zylka.	
Schulze, G., s. Krüskemper, H.-L.	
Schulz, R., s. Rummel, W.	
Schwarzacher, H. G., und Ch. Stumpf, Über die Auswertung von Ganglienblockern an der Mauspupille	422
Sielaff, H. J., und H. Dengler, Pharmakologische Beeinflussung der Dünndarmmotilität beim Menschen durch Diphenyl-piperidino-äthyl-acetamidbrommethylnat (12494 Hoechst) und Regitin. Mit 7 Textabbildungen	413
Steyer, H., s. Hinrichs, K., H. Poppe und H. Weidemann.	
—, s. Poppe, H., K. Hinrichs und H. Weidemann.	
Stumpf, Ch., s. Schwarzacher, H. G.	
Taugner, R., s. Braun, W., und K. H. Althoff.	
Thomä, O., und H. Wick, Über einige Tetrahydro-1,4-oxazine mit sympathicomimetischen Eigenschaften. Mit 7 Textabbildungen	540
Verhandlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. 20. Tagung. Gehalten in Bonn vom 4. bis 7. Oktober 1953.	
A. Eröffnungsansprache	1
B. Referate	3
Hauptthema I. Neue Wege zur Dämpfung von Stoffwechsel und Nervensystem	15
Hauptthema II. Blutgerinnung	89
C. Einzelvorträge	163
D. Demonstrationen.	251

Identifizierung von Substanz DS mit 5-Oxytryptamin. Mit 1 Text- abbildung	427
Ann, E., Zur Digitaliswirkung auf die neuromuskuläre Übertragung. 5 Textabbildungen	398
Weidemann, H., s. Hinrichs, K., H. Poppe und H. Steyer.	
—, s. Poppe, H., K. Hinrichs und H. Steyer.	
Wiek, H., s. Thomä, O.	
Zetler, G., und L. Schlosser, Über das Vorkommen von 5-Hydroxytryptamin (Enteramin oder Serotonin) im Gehirn von Säugetieren. Mit 2 Text- abbildungen	345
Zylka, W., s. Gänshirt, H., H. Hirsch, W. Krenkel und M. Schneider.	

A. Eröffnungsansprache zur 20. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

in Bonn vom 4. bis 7. Oktober 1953.

W. SCHULEMANN (Bonn): Meine Damen und Herren! 32 Jahre nach der Gründung unserer Gesellschaft durch HEFFTER und STRAUB habe ich heute die Ehre, in der alten Universitäts- und neuen Bundeshauptstadt — in der Beethoven- und Gartenstadt — Bonn die 20. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft zu eröffnen.

Ich begrüße die Vertreter von den Bundes- und Landesministerien, besonders des Landes Nordrhein-Westfalen, des Bundesgesundheitsamtes, der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Arbeitsgemeinschaft für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen, der Stadt Bonn und unserer Universität.

Mein Gruß gilt ferner den Mitgliedern unserer Gesellschaft, vor allem denen aus dem Osten. Wir wollen alles tun, was in unseren Kräften steht, um gerade diesen, uns so besonders nahestehenden Kollegen und Freunden den Aufenthalt hier und in unserem Kreise so schön und anregend wie nur möglich zu gestalten.

Herzlich begrüße ich die in- und ausländischen Teilnehmer und die Gäste unserer Gesellschaft — vor allem die Herren JAULMES, BÉNITTE und LABORIT, sowohl die Herren KOLLER und JÜRGENS, die von Frankreich bzw. der Schweiz zu uns gekommen sind, um uns über ihre Arbeitsgebiete zu berichten und uns damit Anregung zu weiterer Arbeit — vor allem zu freundschaftlicher Zusammenarbeit — zu geben.

Ihnen, meine verehrten Herren, danke ich verbindlichst und hoffe, daß Sie sich in unserer Mitte wohlfühlen werden.

Weiterhin habe ich besonderen Dank den Herren HELFERICH, DANNEEL und SCHUMACHER zu sagen. In so freundlicher und großzügiger Weise haben Sie uns die Hörsäle, Räume Ihrer Institute und den botanischen Garten zur Verfügung gestellt, daß wir nun unsere Tagung nicht nur durchführen, sondern dies auch in technisch und ästhetisch guter Form tun können. Sie haben uns damit aus einer argen Verlegenheit geholfen, da das seit 1950 mit so großzügiger Hilfe des Landes Nordrhein-Westfalen wiederaufgebaute Pharmakologische Institut noch keinen eigenen Hörsaal und Kurssaal besitzt. Nach all den guten Erfahrungen, die ich in den vergangenen drei Jahren gemacht habe, bezweifle ich nicht, daß auch noch diese Räume erstellt werden, sobald das nur eben möglich ist.

Anschließend fährt er fort:

Meine Damen und Herren!

In aufrichtiger tiefer Trauer denken wir der Mitglieder unserer Gesellschaft, die im vergangenen Jahr von uns gegangen sind: der Herren ROST, REIN, ELLINGER und HAFFNER. Jeder eine Persönlichkeit besonderer Prägung, jeder ein Forscher, der am Aufbau der Grundlagen mitwirkte, auf denen sich unser heutiges Denken und Handeln vollzieht. Ich muß es mir versagen, hier auf Einzelheiten einzugehen, kann nur das Lebenswerk und der Persönlichkeit dieser vier hervorragenden Forscher zusammenfassend würdigend gedenken.

Unser Geheimrat ROST, mit seinem großen Verantwortungsgefühl, Können und Weisheit steht uns als Vertreter der angewandten Pharmakologie und Toxikologie immer als der Wahrer der Volksgesundheit vor Augen.

REIN, der zwar allgemein als Physiologe bezeichnet wird, greift weit und grundlegend mit seinen Arbeiten über auf das Gebiet der Pharmakologie. Sein Forschen war geleitet von der Anschauung, daß der Stoffwechsel die Grundlage aller Lebensvorgänge ist, daß z. B. auch die Regulation des Kreislaufes eng gekoppelt ist mit Stoffwechselvorgängen und daß nur mit schonenden „physiologischen“ Methoden die Probleme der Physiologie und Pharmakologie gelöst werden können. Der Einfluß der nervösen und humoralen Korrelationen auf den Ablauf der Lebensvorgänge war eine weitere selbstverständliche Grundlage seines Forschens.

Und ähnlich, wenn auch in anderer Richtung und auf anderen Gebieten dachte und forschte ELLINGER, dem wir — trotz all der Störungen und Hemmungen, die er auf seinem dornenvollen Lebensweg zu erdulden und zu überwinden hatte — grundlegende Ergebnisse zu verdanken haben. Seine Arbeiten über die Nierenfunktion, deren nervösen Steuerung, die von ihm entwickelte Fluoreszenzmethodik und die damit erzielten grundlegenden Ergebnisse sind zu Marksteinen geworden.

Wenn ich abschließend unseres lieben Freundes HAFNER mit besonderer Wärme gedenke, so werden Sie verstehen, daß ich bei ihm die Harmonie in den Vordergrund stelle, die seine Persönlichkeit mit seinem Lebenswerk verband. In seiner Ausgeglichenheit, in der Tiefe und Zuverlässigkeit seines Wesens stand er uns — neben seinem grundlegenden Wirken als Forscher — menschlich so nahe, daß wir mit seinem Weggang aus unserem Kreise einen der Sammelpunkte unserer Tagungen verloren haben, zu dem wir uns stets hingezogen fühlten.

Ich wünsche unserer Tagung einen guten Verlauf.

B. Referate.

W. SCHULEMANN (Bonn): Über den heutigen Stand pharmakologischer Forschung.

Wenn ich am Beginn unserer Tagung einiges über „den heutigen Stand pharmakologischer Forschung“ sage — so wie er sich mir darstellt — bin ich mir klar darüber, daß ich Ihnen nichts grundsätzlich Neues vortragen kann. Vielleicht aber ist es doch nützlich und zweckmäßig, von Zeit zu Zeit an sich allgemein bekannte Tatsachen zusammenfassend zu betrachten, nicht nur vom wissenschaftlichen, sondern auch vom praktischen Standpunkt aus.

Stets war und ist die pharmakologische Forschung bestrebt, den Wirkungsmechanismus der Arznei- und Giftstoffe und damit zugleich die Ursachen für ihre oft so spezifische Wirkung zu erkennen. Es ist uns selbstverständlich, daß je nach den Bedingungen ihrer Anwendung — insbesondere der Dosierung — eine Substanz als Nährstoff, Arzneistoff oder Giftstoff wirken kann.

Als Toxikologe hat sich der Pharmakologe nicht nur mit der Giftwirkung einmaliger großer Substanzgaben, sondern besonders auch mit den Auswirkungen kleiner und kleinster Tagesgaben, die lange Zeit hindurch gegeben werden, zu beschäftigen, ein Aufgabenkreis, der immer größere praktische Bedeutung gewinnt. Ich erinnere nur an all die Substanzen, die teils willkürlich teils zwangsläufig den Lebensmitteln zugesetzt werden oder in sie hineingelangen, ebenso an alle die Stoffe, mit denen uns die fortschreitende Technik täglich in mehr oder weniger enge Berührung bringt.

Ganz allgemein kann gar nicht nachdrücklich genug darauf hingewiesen werden, von welch überragender Bedeutung es für die Auswertung von Nähr-, Arznei- und Giftstoffen ist, die besonderen Faktoren zu berücksichtigen, die entsprechend der angewandten Tierarten einerseits, den gegebenen physiologischen oder pathologischen Bedingungen andererseits unsere Ergebnisse grundsätzlich beeinflussen. Das alles wird noch überlagert von den bekannten individuellen Unterschieden, wie Alter, Rasse, Ernährungszustand usw.

Wenn einer unserer Altmeister der Pharmakologie, SCHMIEDEBERG, in seinem 1888 verfaßten Grundriß der Pharmakologie die Definition gab: „Der Pharmakologe sucht die Lebensvorgänge zu erforschen, indem er mit chemischen Agenzien physiologische Reaktionen ausführt“, so hat er mit dieser Feststellung damals der Pharmakologie eine klare Grundlage und Ausrichtung gegeben. Wie überall sonst ist aber auch der Zweig

der medizinischen Wissenschaft, den wir als „Pharmakologie“ bezeichnen, dem ständigen Wandel unterworfen, der als dynamisches Prinzip die Welt beherrscht. So hat sich im Laufe eines halben Jahrhunderts der Aufgabenkreis und damit die wissenschaftliche wie praktische Bedeutung der Pharmakologie gewandelt und erweitert. Dankbar und in tiefer Verehrung denken wir der Männer, deren Lehren und Leistungen das Fundament für unsere heutige Arbeit geschaffen haben. Was wir heute sagen und tun hat nur Bedeutung für den Augenblick, steht aber im engsten Zusammenhang mit dem ewigen Gestern und dem ewigen Morgen.

Wie und in welcher Richtung sich die Toxikologie als Teilgebiet und als eine der Grundlagen jeder pharmakologischen Forschung entwickelt hat, habe ich schon dargelegt. Gestatten Sie mir nun auf den Ausbau der „Arzneiforschung“ als solcher hinzuweisen. Einst beschränkte sich der Pharmakologe im wesentlichen darauf, normale Organfunktionen zu verändern, oder veränderte Funktionen zu normalisieren, d. h. Grundlagen für die Therapie von Organerkrankungen zu schaffen. Heute arbeitet er intensiv und erfolgreich mit an der Entwicklung der Arzneytherapie von Infektionskrankheiten — der sogenannten „Chemotherapie“. Die Behandlung von Infektionen durch Viren, Bakterien, Protozoen, Endo- und Ektoparasiten aller Art und selbstverständlich auch das Problem der malignen Tumoren — die „Krebsforschung“ — sind zwar nicht ein Reservat der Pharmakologie geworden, gehören jedoch ebenso zu ihrem Arbeitsgebiet wie die Forschung auf dem Gebiet der Vitamine, Hormone, Enzyme, Antibiotica und der sogenannten Überträgerstoffe.

Diese Zusammenhänge werden noch deutlicher, wenn wir die gemeinsamen Grundlagen betrachten, auf der sich heute die Forschung des Pharmakologen — im weitesten Sinne dieses Wortes — aufbaut.

Eine große Zahl von Heilstoffen war seit grauer Vorzeit auf dem Wege der Empirie — jener Summe von Beobachtung, Systematik und Intuition — angesammelt worden. Beschreibend und analysierend wurden sie zunächst gesichtet und geordnet. Aus unklaren Gemischen wirksamer und wirkungsloser Stoffe, meist pflanzlichen „Drogen“, wurden einheitliche Verbindungen isoliert und chemisch und biologisch charakterisiert. Diesem Zeitalter der rein descriptiven Analyse schlossen sich produktivere Zeiten an. Die Anwendung der Ergebnisse der fortschreitenden Entwicklung der exakten Naturwissenschaften — besonders der Chemie —, eröffnete der Biologie und der Medizin neue Möglichkeiten.

Leitete einst das intuitive Denken, die intellektuelle Intuition als irrationale Funktion, die Forschung, so trat später das gerichtete Denken, der Intellekt, als rationale Funktion mehr und mehr in den Vordergrund. Oft begegnen wir heute Übersteigerungen in dieser Richtung, z. B. in

dem Versuch biologische Vorgänge mehr oder weniger rein mathematisch zu erfassen. Keineswegs soll damit geleugnet werden, daß mathematisch-statistische Betrachtung ein unentbehrliches Hilfsmittel auch für die Auswertung von biologischen Versuchsergebnissen ist. Wahren Fortschritt sehen wir aber nur da, wo das gerichtete, intellektuelle Denken des Forschers sinngemäß verknüpft ist mit der Intuition des Künstlers und der Beobachtungsgabe des Experimentators.

In dem Bestreben, Erkenntnis zu gewinnen, sucht der Forscher allgemeine Zusammenhänge zu erkennen, um darauf aufbauend Fortschritte zu erreichen. Das gilt ganz allgemein. Auf dem Gebiet der Arzneistoff-Forschung sind es besonders drei Tatsachen, die augenfällig im Vordergrund stehen und dazu verlocken, Zusammenhänge zu suchen. Das sind 1. die oft sehr auffallende spezifisch-biologische bzw. therapeutische Wirkung, 2. die chemische Konstitution der Stoffe, 3. ihre physikalischen bzw. physikochemischen Eigenschaften.

Ich sehe es nicht als meine Aufgabe an, an dieser Stelle auf die Ihnen so wohlbekannten Theorien über die viel diskutierten Beziehungen von chemischer Konstitution und Wirkung einzugehen. Sie waren zwar zu ihrer Zeit von größtem Wert, aber auch die Anschauung, daß von der chemischen Konstitution einer Verbindung ihre physikalischen und physiko-chemischen Eigenschaften abhängen, und daß diese nun ihrerseits die spezifische Verteilung und damit Wirkung der Arzneistoffe bedingen, führte zu keiner allgemein gültigen Deutung der Phänomene im exakt naturwissenschaftlichen Sinne. Nur innerhalb enger Grenzen ist es möglich und für die Weiterentwicklung auch nützlich, Überlegungen über vielleicht bestehende Wechselbeziehungen anzustellen.

Eine neue Betrachtungsweise wurde in den letzten Jahrzehnten angebahnt durch Beobachtungen bei der Arzneitherapie von Infektionskrankheiten — der sogenannten „Chemotherapie“. Therapeutisch an sich indifferente Stoffe konnten — vorher gegeben — die Wirkung spezifischer Heilstoffe verhindern. Dieses Prinzip wurde „Interferenz“-Erscheinung genannt. Es war dem Pharmakologen bereits bekannt. Er wußte, daß manche Stoffe als „Synergisten“ oder als „Antagonisten“ wirken können, wenn sie zugleich oder nacheinander verabreicht werden; es ist möglich, durch Kombination zweier geeigneter Stoffe Verstärkung oder Hemmung der Arzneistoffwirkung zu erreichen.

Als später festgestellt wurde, daß Pepton (LOCKWOOD), p-Aminobenzoessäure (WOODS und FILDES) und andere Stoffe die Wirkung gewisser Sulfonamide gegen grampositive Bakterien abschwächen oder gar aufheben können, begann eine emsige Suche nach solchen Antagonisten („competing substances“ in angelsächsischer Nomenklatur). Es ist heute modern, möglichst allgemein pharmakologisch-therapeutische Probleme im Sinne des Synergismus bzw. Antagonismus zu deuten, sei es bezüglich

der Rivalität zweier an sich körperfremder Substanzen, sei es bezüglich der „Interferenz“ gegenüber einer physiologischen Substanz (eines Nährstoffes, eines Stoffwechselproduktes, eines Vitamines oder eines Hormons im Sinne einer „Verdrängungstheorie“).

Trotz der bereits gekennzeichneten Auswüchse dieser Betrachtungsweise hat sie doch weitergeführt zu kausalerem Denken. In vielen Fällen konnte gezeigt werden, daß spezifische Arzneistoffwirkungen weitgehend unabhängig von einer „selektiven Verteilung“ der Stoffe auftreten. Eine selektive Verteilung erfolgt oft gar nicht bzw. besteht sie nur vorübergehend im Beginn der Verabreichung — und doch ist eine deutlich spezifische Wirkung vorhanden.

Diese Tatsache wird sofort verständlich, wenn man bedenkt, daß bisher das Heilmittel, der Arzneistoff, als das im wesentlichen aktive Agens angesehen wurde, dessen Angriff der Organismus — sei es Mensch, Tier oder Infektionserreger — passiv ausgeliefert war. Daß aber die Zellen eines Menschen, eines Tieres, der Pflanze und auch die Infektionserreger recht aktiv mitwirken, zeigt die Entwicklung von Resistenzerscheinungen (Arzneifestigkeit) und von Gewöhnungsercheinungen; das geht auch hervor aus den Ergebnissen der physiologischen Chemie, insbesondere der Stoffwechselforschung.

Verständlich wird das pharmakologische Geschehen, wenn wir folgende Tatsachen betrachten:

Die befruchtete Eizelle — der Ursprung jedes höheren Lebewesens — teilt sich zunächst in untereinander gleichartige Zellen. Bald aber scheiden sich die Zellen zunächst in trophische und somatische, dann differenzieren sich die gebildeten Keimblätter weiter und weiter in Gewebe und Organsysteme der verschiedensten Art.

Die entstehenden Zellgruppen sind voneinander verschieden, aber die Zellen innerhalb einer Gruppe sind gleichartig in ihrer Struktur, in ihrem Stoffwechsel und in ihrer Funktion. Struktur, Stoffwechsel und Funktion sind spezifisch für jede Zellart, sei es bei Mensch, Tier oder Pflanze oder bei Infektionserregern in ihren verschiedenen Entwicklungsphasen. Struktur, Stoffwechsel und Funktion sind wechselseitig voneinander abhängig. Greift eine Substanz mittelbar oder unmittelbar in den Stoffwechsel ein, so ändert sich nicht nur die Funktion der Zelle, sondern auch ihr Strukturbild im Sinne einer funktionellen Histologie. Diese Einwirkung kann an der Zellgrenze stattfinden und zu einer Permeabilitäts- und damit zu einer Struktur-, Stoffwechsel- und Funktionsänderung führen. Dringt aber der Wirkstoff in Protoplasma oder Kern der Zelle ein, so kann er sich dort direkt auswirken, z. B. durch Inaktivierung, Reaktivierung, oder sonstige Änderung der Enzymfunktionen, die für den Ablauf des Stoffwechsels und damit für die Funktion einer Zelle spezifisch sind.

Diese Wirkungen können reversibel sein, dann eröffnen sich Möglichkeiten zur Regulierung gestörter Zell- oder Organfunktionen und damit zur Therapie. Sind sie irreversibel, so bezeichnen wir die Substanz als Gift, das höhere Organismen tötet, als Arzneistoff, wenn sie einen Infektionserreger zum Absterben bringt. Ob eine Substanz als Gift oder als Arzneistoff wirkt, hängt weitgehend ab von der jeweiligen Dosierung. Als irreversible Wirkung müssen wir — wenigstens noch zur Zeit — auch die „carcinogene“ Wirkung mancher Verbindungen, die normale Zellen in bösartige Geschwulstzellen umwandeln, ansehen.

Die Zellen sind nun keineswegs passiv dem Angriff einer Substanz ausgesetzt. Zum Beispiel durch Änderung der Permeabilität an der Zellgrenze kann sich die Zelle gegen den Zutritt einer Substanz schützen — sie wird „arzneifest“. Dringt aber die Substanz in Protoplasma oder Kern ein, so kommt sie selbst in das Getriebe des Zellstoffwechsels und kann je nach ihrer Natur und nach den vorliegenden besonderen Bedingungen verändert, abgebaut und damit inaktiviert werden. Ihre Exkretion oder die ihrer Abbauprodukte ist dann nur noch eine Ausräumungsaktion von sekundärer Bedeutung.

Alles wird überlagert durch die wechselseitigen Beziehungen der Zellen und Zellsysteme, die einen Zellstaat bilden. Gegenseitige Verflechtungen bestehen, um durch Steuerung und Abstimmung der Einzelaktionen die Funktion des Ganzen zu sichern.

Besonders kurzfristig arbeiten die Verknüpfungen durch das animale Nervensystem, etwas langsamer die durch die vegetativen Systeme. Langfristig wirken sich die humoralen Regulatoren, die Hormone, aus. Der nervöse und der humorale Mechanismus sind ihrerseits noch verknüpft in Zwischenhirn und Hypophyse. Welche große wissenschaftliche wie praktische Bedeutung Eingriffen in diese wechselseitigen Verknüpfungen der Organe zukommt, werden uns anschließend die Referate der Herren BÉNITTE und LABORIT über „Neue Wege zur Dämpfung von Stoffwechsel und Nervensystem“ und die daran anschließenden Diskussionen und Vorträge zeigen.

Auch bei den Erregern von Infektionskrankheiten sehen wir — genau wie bei den Organzellen des Kalt- und Warmblüters — daß Zellstruktur, Zellstoffwechsel und Zellfunktion spezifisch und wechselseitig voneinander abhängig sind. Das gilt nicht nur für die einzelnen Arten der Infektionserreger, sondern — falls ein Entwicklungszyklus vorhanden ist — auch für die einzelnen Stadien der Entwicklung. Auch hier greift der Arzneistoff in den Ablauf des Stoffwechsels ein, auch hier sehen wir im Sinne der funktionellen Histologie Strukturveränderung der Parasitenzellen verbunden mit Änderungen in der Lebensfunktion, d. h. der Teilung und Vermehrung. Änderungen der Enzymfunktion im Innern der Zellen und damit Änderungen im Zellstoffwechsel erfolgen in den

Zellen der Infektionserreger genau wie in denen der Organzellen. Hier wie dort haben wir es — wie schon gesagt — mit den Problemen der Interferenz, also Synergismen und Antagonismen, sowie der Arzneifestigkeit zu tun. Das alles wird noch überlagert durch die mehr oder weniger engen Beziehungen der Zellen der Infektionserreger zu den Zellen des Organismus des Wirtes.

Noch vielgestaltiger als auf dem Gebiet der „Pharmakodynamie“ sind die Probleme, denen wir bei der Durchführung der Arzneitherapie von Infektionskrankheiten begegnen, stets aber sehen wir, daß die Beeinflussung des Zellstoffwechsels die Grundlage jeder therapeutischen Wirkung ist.

Eine Ausnahme scheinen bei oberflächlicher Betrachtung nur die kleinsten und kleinen Viren zu bilden, Nucleoproteide ohne eigenen Stoffwechsel, an sich leblose große Moleküle oder Molekülaggregate, die erst zum Leben erwachen und sich vermehren, wenn sie Anschluß an lebende Zellen gefunden haben. Vielleicht werden einst Mittel und Wege gefunden durch „blockierende“ Substanzen der Entstehung eines solchen Stoffwechsels und damit der Virusvermehrung vorzubeugen — ein Problem das wahrscheinlich eng verknüpft ist mit dem mancher maligner Tumoren. Therapeutisch einzugreifen, d. h. das Stoffwechselgeschehen zu beeinflussen, ist leider erst möglich, nachdem Stoffwechselvorgänge begonnen haben. Dann aber ist es leider oft schon zu spät.

Weit günstiger liegen die Verhältnisse bei den großen Viren, insbesondere den Rickettsien, die einen eigenen Stoffwechsel haben.

Welch enge Verflechtung zwischen Struktur, Stoffwechsel und Therapie bestehen, zeigen die „grampositiven“ Bakterien. Auf den ersten Blick erscheint es verwunderlich, daß Zusammenhänge bestehen zwischen den Ergebnissen einer empirischen Färbemethode und der therapeutischen Wirkung verschiedener Substanzgruppen, z. B. solcher durch Sulfonamidgruppen substituierten Verbindungen. Seit wir aber wissen, daß die Färbbarkeit nach Gram bedingt ist, durch einen für den Stoffwechsel der Bakterienzellen charakteristischen Gehalt an Plasmonucleinsäure (Ribonucleinsäure) wird uns die spezifische Arzneistoffwirkung auch auf diesem Gebiet verständlicher.

Es erscheint uns nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen über den spezifischen Stoffwechsel nicht nur der einzelnen Protozoen sondern auch der Stadien ihrer Entwicklung heute auch durchaus begreiflich, daß spezifische Arzneistoffe notwendig — und auch gefunden worden — sind zur Behandlung von Infektionen mit z. B. *Trypanosoma gambiense* und *rhodesiense*, mit *Tr. congolense* oder mit *Schizotrypanum cruzi*. In der Therapie der Malaria brauchen wir spezifisch wirkende Mittel gegen die exoerythrocytären und die erythrocytären Entwicklungsformen der Plasmodien und auch unter diesen sind Trophociten,

Schizonten, Gamonten und präerythrocytäre Formen nur gegen besondere Arzneistoffe empfindlich.

Endo- und Ektoparasiten wie Würmer, Läuse, Wanzen usw. sind schon so kompliziert gebaute Organismen, daß es uns selbstverständlich erscheint, daß die Bekämpfung sich mehr oder weniger eng anschließt an die Gesetzmäßigkeiten, die wir vom Kalt- und Warmblüter her kennen und zu berücksichtigen gewohnt sind.

So kommen wir für die Arzneistoff- und Giftwirkung (je nach der Dosierung) ganz allgemein zu dem Schluß, daß eine Wirkung stets nur da eintreten kann, wo der Wirkstoff in physiologisch oder pathologisch gegebene Verhältnisse einzugreifen imstande ist. Findet der angewandte Stoff keine gegen ihn empfindlichen Zellgrenzen oder Enzyme usw. vor, so kann er sich auch in hohen Konzentrationen zwangsläufig nicht auswirken.

Zu verstehen sind die oft sehr spezifischen Wirkungen nur bei Betrachtung der Konstitution und Eigenschaften der Substanzen in wechselseitiger Beziehung zu den jeweiligen physiologisch-pathologischen Gegebenheiten.

Gemeinsame Grundlagen für die gesamte Pharmakologie und Therapie ist die Stoffwechselforschung in ihrer Auswirkung auf physiologische und pathologische Vorgänge.

In dieser Richtung liegt die Weiterentwicklung der pharmakotherapeutischen Forschung. Sie umfaßt:

1. Arzneitherapie von Organ-Erkrankungen des Menschen und der Tiere,
2. Arzneitherapie von Infektionskrankheiten, bedingt durch Viren, Bakterien, Protozoen, Endo- und Ektoparasiten,
3. Krebsforschung,
4. Giftwirkung, insbesondere Gewerbetoxikologie einschließlich Arbeiterschutz.

Die vorangehenden Darlegungen geben einen knappen Überblick über die theoretischen Grundlagen pharmakologischer Forschung in ihrer Entwicklung und in ihrem heutigen Stand. Sie werden in der Zukunft genau wie in der Vergangenheit ständig weitere Wandlungen erfahren. Die Methodik, der jeweilige Stand unseres Wissens, der Raum sind flüchtig, die Zeit ist das Element, in dem wir leben; bedenken wir das, so halten wir uns bescheiden fern von doch nur vergänglicher Überheblichkeit.

Wie auf jedem Forschungsgebiet geben Hypothesen und Theorien wertvolle Anregungen für die Weiterentwicklung, aber gerade auf dem Gebiet der Pharmakologie folgt meist die Theorie dem praktischen Erfolge nach.

Die produktive Forschung auf dem Arzneistoffgebiet geht — allerdings gestützt auf ein sehr breites wissenschaftliches Fundament — meist andere Wege, um rascher praktisch-therapeutische und damit soziale und wirtschaftliche Resultate zu erzielen.

Sollen neue Arzneistoffe entwickelt oder neue Anwendungsgebiete bekannter Stoffe erschlossen werden, so ist es zunächst notwendig, ihre Eigenschaften genau zu ermitteln, bevor versucht wird, sie bei dem Menschen anzuwenden. Wirkungen und Nebenwirkungen müssen — im Vergleich zu ähnlichen schon bekannten Arzneistoffen — möglichst genau im Laboratorium festgestellt werden, bevor der verantwortungsbewußte Arzt sich entschließen wird, die Wirkung eines neuen Heilstoffes bei den ihm anvertrauten Kranken zu prüfen.

Neben dieser an sich selbstverständlichen Einstellung des Arztes ist es ja auch praktisch unmöglich, die vielleicht vorhandene therapeutische Wirkung irgendeiner neuen Verbindung direkt am kranken Menschen zu ermitteln, da selbst gleichartige Erkrankungen des Menschen einen überaus verschiedenen Ablauf zeigen und weit ausgedehnte Vergleichsversuche unter möglichst gleichartigen Bedingungen notwendig sind, um ein Urteil über Wert oder Unwert eines neuen Heilstoffes zu gewinnen.

Es ist also unbedingt notwendig, zunächst eingehende Versuche im Laboratorium durchzuführen, um möglichst exakte Unterlagen für eine spätere „klinische Prüfung“ zu schaffen.

Die auszuführende Entwicklungsarbeit verläuft zwangsläufig in zwei Hauptrichtungen.

Der Chemiker stellt neue Verbindungen her, sei es durch Isolierung aus Naturstoffen, sei es durch Synthese, — der Pharmakologe prüft diese Stoffe im Tierversuch auf Wirkung und Nebenwirkung (Giftigkeit).

Eine ganze Reihe von Voraussetzungen muß erfüllt sein, soll diese Arbeit in absehbarer Zeit zu einem praktischen Erfolge führen.

Nur die enge harmonische und verständnisvolle Zusammenarbeit von Chemiker, Pharmakologe und Kliniker macht es möglich, Probleme aufzustellen und zu lösen. Im gesamten Verlauf der Entwicklungsarbeit bestehen engste Verflechtungen zwischen den Mitarbeitern.

Der Pharmakologe muß im Laboratorium einen „Test“ schaffen, der es ihm ermöglicht, vergleichende Auswertungen von Stoffen durchzuführen, die der Chemiker darstellt.

Ein solcher Test muß einerseits dem bei Mensch oder Großtier auftretenden klinischen Krankheitsbild, das bekämpft werden soll, sinngemäß angepaßt sein, er muß andererseits eine vergleichende Auswertung unter möglichst gleichartigen und übersichtlichen Bedingungen in genügender Breite erlauben.

Kliniker und Pharmakologe werden dem Chemiker Hinweise darauf geben, welche Stoffe — wenn auch vielleicht nur mit einer Andeutung —

von Wirkung auf dem zu bearbeitenden Indikationsgebiet bereits bekannt sind, damit er darauf fußend durch Variation der Konstitution die synthetische Weiterentwicklung beginnen kann. Hier sind auch — allerdings nur in dem bereits umrissenen engen Rahmen — die schon erwähnten Betrachtungen über chemische Konstitution und Wirkung von einigem praktischen, richtungweisenden Werte.

Auf dem Gebiet der Arzneistoff-Forschung ist heute die Synthese von Naturstoffen nur noch selten von praktischer Bedeutung und ein therapeutischer Fortschritt ist außerdem auf diesem Wege zwangsläufig unmöglich. Wir streben ja danach zu besser wirksamen und besser verträglichen Verbindungen zu kommen, als sie in den Drogen vorhanden sind. Es ist weiterhin notwendig, daß der Chemiker mit Substanzen und Methoden arbeitet, die es ihm relativ rasch gestatten, eine größere Anzahl in ihrer Konstitution verwandter Verbindungen darzustellen und zu variieren. Je einfacher die synthetischen Methoden sind, mit je besserer Ausbeute die Reaktionsphasen verlaufen, um so eher wird ein Erfolg erreicht werden, um so wirtschaftlicher wird sich dann auch der Stoff herstellen lassen. Fordert aber ein Pharmakologe, der von chemischer Technik nichts versteht, langwierige, schwer auszuführende Synthesen kompliziert aufgebauter Stoffe, so wird nur selten und spät, wenn überhaupt, ein Erfolg zu erreichen sein.

Für die Entwicklung der Test-Methoden durch den Pharmakologen gelten ähnliche Gesichtspunkte. Seine Arbeit wird noch dadurch kompliziert, daß er am lebendigen Objekt arbeitet, also nicht so exakte Methoden anwenden kann, wie sie dem Chemiker zur Verfügung stehen. Durch Elementaranalyse, physikalische und physiko-chemische Konstanten, Konstitutionsbeweise usw. kann der Chemiker die von ihm dargestellten Verbindungen genau charakterisieren. Der Pharmakologe muß bei seinen Versuchsergebnissen stets mit all den vielen individuellen Faktoren rechnen, die zwangsläufig bei allen biologischen Arbeiten in mehr oder weniger großem Umfang und Zahl auftreten, selbst wenn er noch so einfache, typisierte Vergleichsmethoden entwickelt und anwendet.

Schon daraus allein geht hervor, wie groß das gegenseitige Verstehen der zusammenarbeitenden Chemiker und Pharmakologen sein muß. Keiner darf von dem anderen Unmögliches verlangen und jeder muß die besondere Arbeitsweise seines Mitarbeiters kennen, um seine Ergebnisse richtig zu verstehen und zu bewerten.

Im Zuge einer solchen Zusammenarbeit ist ein stetes wechselseitiges Eingehen auf die ständigen Schwankungen unterworfenen Erfordernisse notwendig. Der Chemiker wird sich im weiteren Ausbau seiner Verbindungen nach den Ergebnissen des Pharmakologen richten, der Pharmakologe muß elastisch seine Methoden dem gemeinsam erstrebten Ziele

anpassen unter ständiger Berücksichtigung der klinischen Erfordernisse. Grundlagenforschung und Zweckforschung sind eine untrennbare Einheit und müssen in wohl ausgewogenem Gleichgewicht durchgeführt werden, wenn praktisch brauchbare — in unserem Falle — therapeutische Ergebnisse erzielt werden sollen.

Damit aber haben wir nur einen Ausschnitt aus dem Gebiet der Arzneistoff-Forschung behandelt: die zielgerichtete Entwicklung neuer Heilmittel durch chemische Synthese.

In der Praxis besteht dieser Idealfall nur an sehr wenigen Stellen und zur Durchführung solcher Arbeiten sind sehr vielgestaltige und apparativ gut ausgerüstete Laboratorien notwendig, deren Betrieb große Mittel und einen Stab von gut und vielseitig ausgebildeten Mitarbeitern erfordert.

Sehr viele und hochwirksame Heilmittel sind auf anderen, allerdings ähnlichen, Wegen gefunden worden. Sowohl in den Forschungsinstituten der Hochschulen, wie besonders in denen der chemischen Industrie werden laufend neue Substanzen synthetisiert, die teils als solche, teils als Zwischenprodukte die vielseitigste praktische Verwendung finden, z. B. zur Herstellung von Farbstoffen, Textilhilfsmitteln und Kunststoffen. Solche Stoffe können hin und wieder auch die ein oder andere therapeutische Wirkung haben. Meist sind sie nur ein zwar willkommenes, leicht zugängliches und variierbares Material, das durch weitere synthetische Arbeit zu neuen Arzneistoffen aufgebaut oder umgebaut werden kann. So ist es verständlich, daß die Entwicklung neuer Arzneistoffe vielfach und mit besonderem Erfolg in den Werken der chemischen Industrie oder in engem Kontakt von Industrie und Hochschule geschehen ist. Das ist heute noch genau so wie in den vergangenen Jahrzehnten.

Wie auf allen Gebieten, liegt aber auch auf dem der Pharmakologie die Stärke in der verständnisvollen Zusammenarbeit. Diese aber ist von Seiten der Hochschulinstitute nur möglich, wenn auch ihnen ausreichende Mittel zur Verfügung stehen. Sie sind, was die Zahl der Mitarbeiter, Ausstattung der Laboratorien, Möglichkeiten der Tierhaltung usw. angeht, der fortgeschrittenen Technik entsprechend unvergleichlich viel höher als noch vor wenigen Jahren. Nachdrücklichst müssen wir, insbesondere getragen von der Verantwortung für die Nachwuchserziehung für Hochschule und Industrie, die uns vorgesetzten Behörden und Dienststellen immer wieder darauf hinweisen, daß diesen Tatsachen Rechnung getragen werden muß. Ich rede nicht von Bonn, wo wir durch das verständnisvolle Mitwirken insbesondere durch die Ministerien des Landes Nordrhein-Westfalen einerseits, vieler Bundesministerien und nicht zuletzt der Deutschen Forschungsgemeinschaft andererseits in einer relativ guten — allerdings immer noch zu verbessernden — Situation sind.

Ich setze mich vielmehr ein für die große Zahl pharmakologischer Universitäts-Institute, die nur mit größter Mühe und in engsten Grenzen die Mittel erhalten, die sie zur Lösung ihrer Aufgaben benötigen. Diese Hilfe muß heute direkt oder indirekt vom Staat, d. h. durch Zuteilung von Steuergeldern kommen, da sich die Industrie nicht mehr in der gleichen günstigen Situation wie vor diesem letzten unglückseligen Kriege befindet.

In dieser Hinsicht aber sieht es besonders betrüblich aus. In der Wirtschaft ist seit der Währungsreform die Planwirtschaft mit volstem Erfolg zu immer freier werdender Marktwirtschaft abgebaut worden. Nur der üppig wuchernde Bürokratismus, das unvermeidliche Attribut jeder Planwirtschaft hat — wie kürzlich der Generaldirektor des Volkswagen-Werkes richtig sagte — eine Widerstandsfähigkeit bewiesen, die sich sogar gegenüber der besseren Einsicht immer noch behauptet.

Unsere Lage aber ist weit schlimmer. Lehre und Forschung an den Hochschulen sind nach wie vor der nicht nur weiterbestehenden sondern sogar immer weiter ausgebauten Bewirtschaftung der öffentlichen Gelder unterworfen, die in ihrer Form und Intensität den schlechten Seiten der Zwangswirtschaft und des Bezugscheinwesens entsprechen, in deren Folge sich der Bürokratismus selbst weitererzeugt und übersteigert. Das bedingt in unseren Instituten einen ungeheuerlichen Leerlauf und Fehleinsatz von hochqualifizierten Arbeitskräften, die ihre Zeit mit dem Schreiben von Anträgen und Berichten, mit Verhandlungen und der Durchführung von Verwaltungsarbeit vergeuden müssen. Sind aber die Mittel — oft erst nach Verlust langer, wertvoller Zeit — endlich bewilligt und anschließend verausgabt, so kommt dann noch nach Jahr und Tag die Prüfung des Haushaltes und des Verwendungsnachweises. Von der Wiege bis zum Grabe leiden wir unter der Auswirkung der Rechnungshöfe, die ihre an sich wohl segensreiche Tätigkeit leider meist nach vollkommen kameralistischen Gesichtspunkten ausüben. Nur mit großer Mühe können uns einsichtige Beamte hin und wieder schützend und helfend zur Seite stehen.

Neben einer Reduktion der bisher ständig wachsenden Organisationsarbeit müssen wir daher die Zuteilung genügender Hilfskräfte für die Ausführung unvermeidlicher Verwaltungsarbeit fordern.

Zusätzlich wird die einst so erfreuliche Initiative und Unabhängigkeit des Hochschullehrers eingeengt durch die Auswirkung übersteigerter Sozialisierungsmaßnahmen, besser gesagt durch ein ödes Nivellieren. Wir würden es gerne auf uns nehmen, wenn — verglichen mit der Zeit vor 1914 — durch Reduktion der Gehälter, der Honorargelder, durch Nichtauszahlung der Promotionsgebühren und aller sonstigen Abzüge und Abgaben unsere Bewegungsfreiheit eingeengt worden wäre zugunsten derjenigen, denen angeblich auf diese Weise geholfen werden sollte. Aber

wir sehen, daß z. B. nach wie vor der Student seine Promotionsgebühren in alter Höhe bezahlt und müssen feststellen, daß insbesondere unsere Volontärassistenten — soweit sie überhaupt bezahlt werden — nur wenig mehr erhalten als ein Tierpfleger oder eine Putzfrau verdienen. Um gegenüber dem Vorwurf, daß dies als Unterbezahlung beanstandet werden könnte, eine Ausweichmöglichkeit zur Verfügung zu haben, wurde die Tarnbezeichnung „Unterhaltsbeihilfe“ geschaffen. Sicher ist es für die Lehr- und Forschungstätigkeit nicht von Vorteil, wenn ein Mann nach jahrelanger teurer Ausbildung nebenher als Fahrer, Nachtwächter usw. tätig sein muß, um sein Leben fristen und seine Ausbildung vollenden zu können. Wo sollen diese von realer sozialer Not bedrängten Akademiker noch Zeit und Muße hernehmen zum Beobachten und Denken oder gar zur Erweiterung ihrer Allgemeinbildung durch Beteiligung am viel diskutierten Ideal des Studium generale?

Mit aller Schärfe müssen wir immer wieder fordern:

daß die Volontär-Assistenten an Stelle unzureichender „Unterhaltsbeihilfen“ ausreichende Gehälter bekommen,
daß die Zahl der Assistentenstellen wesentlich erhöht wird,
daß Assistenten und junge Dozenten ausreichende Gehälter erhalten.

Nur dann ist es möglich an den Hochschulen Nachwuchs zu erziehen und Forschungsarbeit zu leisten, nur dann ist es möglich die heute übliche vorzeitige Abwanderung von der Hochschule zur Industrie und in das Ausland zu vermeiden, oder wenigstens einzudämmen.

Meine Herren! Dem ein oder anderen von Ihnen wird es vielleicht deplaziert erscheinen, daß ich anschließend an die wissenschaftlichen Probleme der Forschung einige der wirtschaftlichen Fragen erörtert habe, die uns bedrängen. Ich halte es aber für unbedingt notwendig, daß wir es nicht als unter unserer Würde liegend ansehen, immer wieder klar und nachdrücklich zu sagen, was uns bedrückt und welche Änderungen erreicht werden müssen, um die Mißstände zu beheben.

So wie Grundlagen- und Zweckforschung eine unlösbare Einheit bilden, so ist es notwendig, daß wir zur Lösung unserer Aufgaben die materiellen Mittel erhalten, ohne die eine erfolgreiche Arbeit nicht möglich ist. Wir wünschen wieder aus eigener Initiative und mit eigener Verantwortung produktive Arbeit zu leisten und wissen durchaus selbst, wie wir sie durchzuführen haben. Mit der Bewilligung von Forschungsmitteln muß wenigstens einiges Vertrauen bezüglich ihrer sinngemäßen Verwendung verbunden werden. Wir sind vernünftig genug anzuerkennen, daß die Verteilung von Mitteln koordinierender Verwaltungsarbeit bedarf und daß über ihre Verwendung Rechenschaft abzulegen ist. Aber das muß sich in Grenzen halten, die erträglich sind. Eine kleinliche Kon-

trolle, wie z. B. durch Abgabe von Eisenbahn- und Straßenbahnkarten, Einzelbuchung jeder Briefmarke usw. empfinden wir als unserer unwürdig. Wir lehnen es ab, daß wir immer wieder unproduktive Verwaltungsarbeit leisten und daß wir uns durch ständige Bitten und Anträge die zur Arbeit notwendigen Mittel erkämpfen müssen. Tröstlich für uns ist nur, daß wir viele einsichtsvolle, leitende Persönlichkeiten der Behörden, die diese Mißstände genau kennen und selbst gegen die untergeordneten kleinen Geister — leider oft vergeblich — kämpfen, auf unserer Seite wissen.

Es wird viel geredet von der individuellen Freiheit. Möge auch für die akademische Lehre und Forschung das goldene Zeitalter dieser Freiheit bald anbrechen zur Förderung produktiver Arbeitsleistung.

Lassen Sie mich meine Ausführungen schließen mit den Worten, die der Herr Bundeskanzler am 1. September 1953 an unsere Studenten richtete:

„Der Fleiß der Arbeiter in den Fabriken ist auf die Dauer nutzlos, wenn nicht die Wissenschaft einen geachteten Platz im Volksganzen einnimmt. Dazu gehört vor allem eine entsprechende materielle Unterstützung und eine angemessene Besoldung.“

Bundeskanzler, Bundesministerien und manche Ministerien der Länder — besonders des Landes Nordrhein-Westfalen — haben immer wieder bewiesen, wie großes Verständnis sie für diese Probleme haben. Dankbar sind wir dafür, daß uns von diesen Stellen schon oft tatkräftig geholfen wurde. Aber diesen Dank verbinden wir mit der Bitte um weitere und noch durchgreifendere Unterstützung im Sinne meiner vorangehenden Darlegungen.

Hauptthema I.

Neue Wege zur Dämpfung von Stoffwechsel und Nervensystem.

H. WEESE (Wuppertal): „Potenzierte Narkose“ und „Hibernation durch Phenothiazine“. Einführung ins Hauptthema.

Meine Aufgabe, eine Einleitung zum heutigen Thema über die „potenzierte Narkose“ und den „pharmakodynamischen Winterschlaf“ zu geben, bringt mich in einige Verlegenheit. Einmal haben wir selbst über dieses Thema nur am Rande mitgearbeitet, zum anderen haben wir ja die Freude, daß die Entdecker dieser praktisch schon so weit verbreiteten

Verfahren, die Herren JAULMES, LABORIT und BÉNITTE vom Militärhospital Val de Grace, aus Paris zu uns gekommen sind, um uns persönlich über ihre Forschungen und praktischen Erfahrungen zu berichten.

Zunächst möchte ich den Entwicklungsgang dieser Forschungen skizzieren:

Unter dem Eindruck der Schockuntersuchungen von REILLY und der Sympathektomien des Chirurgen LERICHE kam der Chirurg LABORIT 1948 auf die Idee, die physiologischen Gegenregulationen des Organismus gegen den Schock ganz auszuschalten, obwohl man bisher immer bemüht war, sie durch Sympathicomimetica, Analeptica usw. zu verstärken. LABORIT hoffte einerseits durch Spasmolytica und Ganglienblocker die kontrahierten Blutgefäße während der Zentralisation zu erweitern, um sie dann mit Blut frisch aufzufüllen. Andererseits wollte er den Stoffwechsel senken, um gefahrloser narkotisieren zu können, weil er auch die Untersuchungen von GUEDEL in seine Spekulationen einbezog. GUEDEL hatte ja nachgewiesen, daß ein Organismus umso leichter narkotisierbar ist, je niedriger sein Stoffwechsel und damit auch seine Körpertemperatur ist. Mit peripheren Adrenolytica, wie Yohimbin und Hydergin, hatte er ebenso unbefriedigende Ergebnisse wie mit reinen Ganglienblockern — Hexamethonium, Dibenamid und Nicotin. Da Antihistaminica einen durch Curare hervorgerufenen Bronchospasmus lösen können, zog LABORIT auch diese Klasse von „Spasmolytica“ in seine Versuche ein. Er wählte das Phenergan (Atosil), weil bei ihm die hypnotische Wirkung besonders ausgeprägt ist. Die mit Phenergan vorbehandelten Mäuse konnte er schon mit Bruchteilen der Äthermengen, welche die Kontrollen ohne Vorbehandlung benötigten, narkotisieren. Hierin sah er den ersten experimentellen Erfolg seiner Bemühung um die „potenzierte Narkose“.

In Zusammenarbeit mit dem Physiologen BÉNITTE einerseits und den Pharmakologen von Rhône-Poulenc andererseits wurde nun nach Phenothiazin-Verbindungen geforscht, bei denen außer der Ganglienblockade die Depression des Stammhirns noch ausgeprägter ist. Die bisher optimale Verbindung ist sowohl nach experimentellen Befunden von LABORIT wie nach den kühnen empirischen Ergebnissen des Narkotiseurs HUGUÉNARD das Megaphen. (RP 4560, das LABORIT wegen seiner so ausgeprägten Wirkung anfänglich „Potentialisateur“ nannte.)

Aus den Tab. 1 und 2, welche sich auf die Ergebnisse der französischen Literatur stützen, ergibt sich die chemische Konstitution und die pharmakologische Wirkung der Phenothiazine von dem starken Antihistaminicum Padisal, das neben seiner Ganglienblocker-Wirkung nur eine minimale zentrale Wirkung entfaltet, über das Atosil, Dibutil und Latibon zum Megaphen, bei welchem der gesamte Wirkungskomplex auf die nervale Seite verschoben ist. Zweifelsohne ist auch das Megaphen

noch keineswegs ein abschließendes Präparat, was schon daraus hervor-
geht, daß für die „potenzierte Narkose“ nicht nur eines, sondern meistens
zwei oder drei dieser Präparate gemischt werden müssen. Diesen Mischun-
gen hat HUGUÉNARD den Namen „Cocktail lytique“ gegeben, ein Begriff,
der bei manchen Pharmakologen ein leichtes Frösteln auslösen wird.

Tabelle 1.

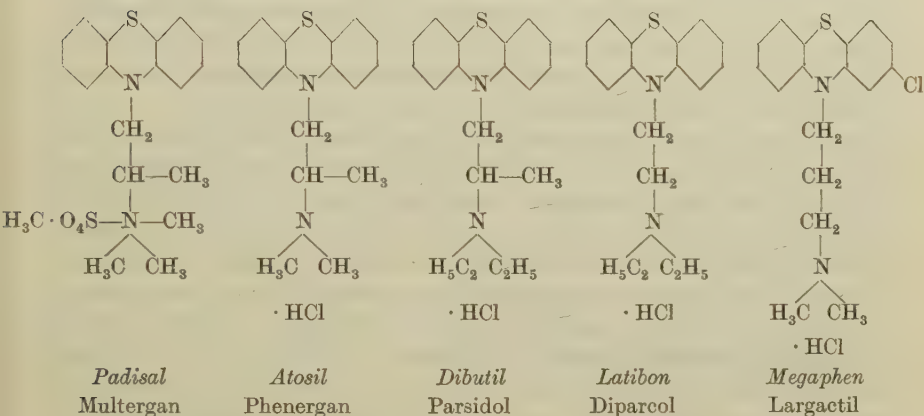
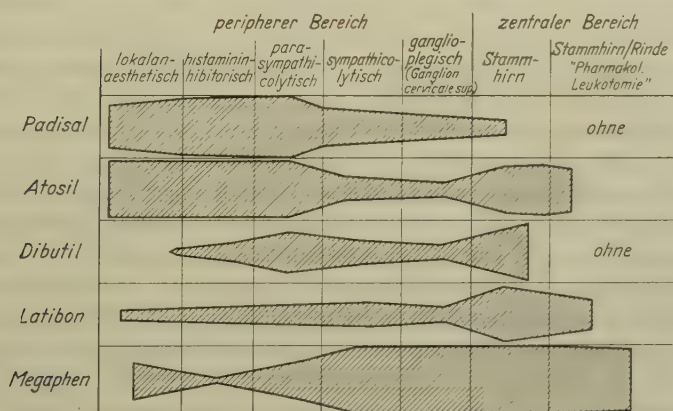


Tabelle 2.



Mit ihrem „Cocktail lytique“ haben LABORIT und HUGUÉNARD eine
Senkung der Körpertemperatur um mehrere Grade und eine Stoff-
wechselsenkung erzielt. Diese „Hibernation“ ermöglicht es, mit geringen
Mengen an Narkoticum, ja sogar ganz ohne Narkoticum schmerz- und
reflexfrei operieren zu können („Narkose ohne Narkoticum“).

Um wissenschaftlich tiefer in den Wirkungsmechanismus dieser „Hibernation“ einzudringen, müssen wir uns also einen geeigneten Aussichtspunkt über dem Tal zwischen Winterschlaf und Unterkühlung suchen. Für die zu schlagende Brücke möchte ich zunächst nur die beiden Stützpfeiler, den physiologischen Winterschlaf und die künstliche Unterkühlung, vor Ihnen aufbauen.

Nur wenige Warmblüter, wie der Feld- und Goldhamster, das Murmeltier und der Siebenschläfer, können sich in den Winterschlaf begeben. Sie können in diesen Zustand erst verfallen, wenn die dazu erforderliche innere Umstellung, die einem jahreszeitlichen Rhythmus folgt, abgeschlossen ist. Hierzu gehört die herbstliche Involution der meisten Drüsen mit innerer Sekretion: Die Hypophyse, die Schilddrüse, die Nebennierenrinde, die α -Zellen des Pankreas und die Genitaldrüsen bilden sich zurück und stellen ihre spezifische Funktion auf ein Minimum ein. Erst wenn diese Involution abgeschlossen ist, kann der spezifische äußere Reiz, die Kälte des äußeren Milieus, die Tiere in Winterschlaf versetzen. Sie geraten in einen Schlafzustand, ihre Körpertemperatur gleicht sich ihrer Umgebung bis auf wenige Grade an. Sie sind aber nur nahezu poikilotherm geworden. Senkt sich z. B. beim Igel die Körpertemperatur unter 4°C , so erwacht er, oder er geht ohne Abwehrreaktion ein. Der Grundumsatz des Murmeltieres ist im Winterschlaf bis auf $1/50$, der des Siebenschläfers sogar auf $1/70$ des sommerlichen Minimums ohne eine vorangehende Steigerung gesunken. Werden ausgewachsene Ratten auf eine Körpertemperatur von 15°C abgekühlt, so sinkt ihr Grundumsatz nur auf $1/7$, nachdem er sich zu Beginn des Einschlafens durch eine excitatorische Steigerung gegen den Kälteangriff heftig gewehrt hatte. In ihrer Vita minima zehren die Winterschläfer von ihren Fettdepots. Mit dem Eintritt der Frühjahrswärme regenerieren zunächst ihre involvierten Drüsen. Erst dann kehren sie mit zunehmender Erwärmung des Milieus langsam wieder in ihren Normalzustand zurück.

Wird ein Winterschläfer im sommerlichen Zustand abgekühlt, so reagiert auch er auf jede Kälteinwirkung zunächst mit einer Stoffwechselsteigerung. Übersteigt in solchen Versuchen die unverhütbare Wärmeabgabe die maximale Grundumsatzsteigerung des Tieres, so wird es — wie der Straßburger Winterschlaf-Forscher KAYSER sich ausdrückt — „durch die Kälte forciert“. GIAJA hat schon 1924 festgestellt, daß der Grundumsatzgipfel der Winterschläfer unter forciertter Kälte 3—4 mal höher als derjenige der reinen Homoiothermen ist. Die Reaktionsfähigkeit eines Murmeltieres entspricht dann etwa derjenigen eines geschorenen Kaninchens. Beide haben eine größere thermoregularische Breite. Werden durch lang anhaltende forcierte Kälte die Energiequellen eines sommerlichen Winterschläfers erschöpft, so kann er wohl in eine Hypothermie, nicht aber in einen Winterschlaf gebracht werden. Er hat also eine kon-

stitutionell bedingte erhöhte Widerstandskraft gegen Kälte. Ausgewachsene Ratten gehen bei einer Kerntemperatur von 9°C im Laufe einer Stunde ein. Hamster überleben eine Kerntemperatur von $3,8^{\circ}\text{C}$ erheblich länger. Curarisierung und künstliche Atmung sind ohne Einfluß auf beider Widerstandskraft. Ganz junge Ratten aber, deren Thermoregulation noch nicht entwickelt ist, vertragen fast so viel Wärmeentzug wie ein Winterschläfer.

Die elektrische Aktivität der Hirnrinde erlischt bei der Ratte bei einer Gehirntemperatur von 15°C . KAYSER schließt aus seinen Versuchen, daß speziell das Nervensystem der Winterschläfer konstitutionsmäßig widerstandsfähiger gegen Abkühlung ist, vermutlich weil es einen geringeren Sauerstoffbedarf hat. Es gelingt auch nicht, sommerliche Winterschläfer durch Pharmaka, wie Insulin, Nembutal oder Phenothiazine in echten Winterschlaf zu bringen. Sie gehen alle an Hypothermie zugrunde (KAYSER).

Während der inkretorisch involvierte Winterschläfer sich für sein kühles Paradies wohl vorbereitet und ohne jede Gegenmaßnahme einwintert, wehrt sich jedes wahre homoiotherme Tier gegen den „stress“ der Unterkühlung zunächst mit allen Kompensationsmöglichkeiten: Adrenalinausschüttung, periphere Kreislaufdrosselung, Stoffwechselsteigerung, Glykosurie usw.

Wichtig ist für die heutige Betrachtung, daß nach WINTERNITZ auf dieses Erregungsstadium bei $34\text{—}31^{\circ}\text{C}$ eine zunehmende Lähmung der lebenswichtigen Zentren folgt. Die Atmung läßt dann infolge des verminderten Kohlensäuredruckes im Blute nach. Gleichzeitig sinkt auch der Sauerstoffverbrauch. Da das p_{H} und die Alkalireserve sich nicht ändern, liegt eine allgemeine Stoffwechselhemmung vor, weil sich, entsprechend dem VAN'T HOFFSchen Gesetz, alle chemischen Reaktionen mit fallender Temperatur verlangsamen, wenn auch nicht in demselben Ausmaß. Das Zentralnervensystem scheint auch beim Winterschläfer am empfindlichsten gegen Unterkühlung zu sein. Die Wärmegrade, bei welcher der Kältetod eintritt, zeigen, wann die Teilreaktionen derart auseinanderfallen, daß sie mit dem Leben nicht mehr vereinbar sind.

Eine weitere entscheidende Reaktionshemmung erleidet die O_2 -Abgabe, denn der Sauerstoffdruck des Blutes sinkt unabhängig vom Sättigungsgrad nach je 10° Senkung auf rund $\frac{1}{5}$ ab. Wie uns VON WERZ gezeigt hat, erfolgt der Kältetod bei hohen O_2 -Sättigungsgraden des venösen Blutes. In seiner „Sauerstoffschere“ belegt VON WERZ, daß in der anfänglichen Abwehrphase gegen Abkühlung der Sauerstoffverbrauch durch Einschaltung der Notfallsreaktion stark ansteigt, während der Sauerstoffdruck bei 30°C schon auf die Hälfte abgesunken ist. Zunächst entwickelt sich also eine Gegenläufigkeit zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot, die zu einer kritischen Hypoxie führt.

Erst in der tiefsten Unterkühlung verlaufen die Kurven gleichsinnig, um sich bei 22° C zu berühren. Die kritische Phase bei der Unterkühlung liegt also zunächst in der Überwindung der anfänglichen Erregungsphase mit ihren gefährdenden Abwehrreaktionen. An dieser Stelle haben uns LABORIT und seine Mitarbeiter einen neuen Weg gezeigt, um in geeigneter Weise diese Abwehr auszuschalten, so daß sich der Organismus unter dem Einfluß von Pharmaka ohne Widerstand abkühlen läßt.

Die anschließenden Referate und Diskussionen werden uns hoffentlich zeigen, wieviel Material wir von jedem der beiden Brückenpfeiler verwenden und ergänzen müssen, um der „Hibernation“ einen auch theoretisch gesicherten Bogen zu bauen.

Literatur.

GIAJA, J.: C. r. Soc. Biol. Paris **90**, 1087 (1924). — KAYSER, CH., et G. HIEBEL: La Presse Medicale **60**, Nr. 80, 1699 (1952). — WERZ, R. v.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **202**, 561 (1943). — WINTERNITZ: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. **33**, 286 (1894).

A. BÉNITTE (Paris): Pharmakologische Hibernisation. Experimentelle Grundlagen.

Mit 11 Textabbildungen.

Die experimentellen Forschungen, die ich die Ehre habe, heute hier vorzutragen, hatten das Ziel, die Wirkung einer neurovegetativen Stabilisierung durch pharmakodynamische Substanzen mit Hypothermie zu kombinieren.

REILLY und seine Schule haben seit 1934 in einer Reihe von Arbeiten dargelegt, welche entscheidende Rolle das vegetative Nervensystem bei der Gesamtheit der Reaktionen des Organismus auf Aggressionen ganz verschiedener Art spielt. Als auslösende Ursache kommen in Frage: Toxine von Keimen aller Art, Alkaloide wie Nicotin, einfache chemische Stoffe wie Bleisalze, Nickel-, Kobalt-, Arsensalze usw., physikalische Reize wie Abkneifen oder Zerquetschen von Nerven, FARADAY-Ströme oder mechanische Reize verschiedener Natur. Die Autoren haben nachgewiesen, daß es einen unspezifischen Reaktionstypus gibt, dessen verschiedenartige Auswirkungen in Frankreich unter der allgemeinen Bezeichnung REILLY-Phänomen bekannt sind. Bei diesem Phänomen unterscheidet man Früh-Reaktionen (Schock-Phänomene) und sekundäre oder Spät-Reaktionen, die nach weniger heftigen und länger anhaltenden Aggressionen auftreten.

Je nach Dauer oder Intensität der Reize, die das vegetative Nervensystem treffen, konnten REILLY und seine Mitarbeiter Blutansammlung, Ödem und schließlich im letzten Stadium Blutungen oder Nekrosen feststellen.

Diese histophysiologischen Reaktionen gehen mit den üblichen Schockreaktionen Hand in Hand. LABORIT kam auf den Gedanken, die REILLY-Phänomene durch die Anwendung von Medikamenten mit besonderen pharmakodynamischen Eigenschaften zu unterdrücken. Diese Medikamente zeichnen sich durch eine mehr oder weniger elektive Wirkung an bestimmten Stellen des vegetativen Systems aus und wirken der unerwünschten Übertragung von störenden Reizen entgegen.

Um nun eine unerwünschte, dem beabsichtigten Zweck entgegengesetzte Reaktion des Organismus zu verhindern, muß man die Mittel niedrig dosieren, auf der anderen Seite allerdings ihre Zahl erhöhen, damit sie synergistisch, und an verschiedenen Stellen des vegetativen Nervensystems angreifen können. Außerdem müssen die Dosen zur Erzielung einer Dauerwirkung wiederholt gegeben werden.

Bei der Anwendung pharmakodynamischer Mittel mit Wirkung auf das vegetative Nervensystem hat sich gezeigt, daß die Reaktionen des von REILLY beschriebenen, nach verschiedensten Aggressionen auftretenden nervösen Erregungs-Syndroms gedämpft werden. Anstatt einen bereits geschwächten Organismus dazu anzuregen, bis zum äußersten gegen eine Aggression anzukämpfen, indem man überschießende, oft ungünstige, Reaktionen auslöst oder unterstützt, erspart man es vielmehr dem Organismus, seine ganzen Energien und Reserven zu verausgaben.

Es war verlockend, zur Erzielung eines Zustandes verlangsamten Lebens, in welchem eine Indifferenz gegenüber äußeren Belastungen besteht, die Wirkung der Kälte mit einer neurovegetativen Stabilisierung durch pharmakodynamische Substanzen zu verbinden.

Es ist bekannt, daß örtliche oder allgemeine Hypothermie sich günstig auf einen Organismus auswirken kann, der bestimmten Aggressionen ausgesetzt ist. Logischerweise schreibt man diese günstige Wirkung hauptsächlich der Tatsache zu, daß die Kälte jegliche biologische Tätigkeit verlangsamt. Gewöhnlich läßt sich aber eine Senkung der Körpertemperatur nicht ohne eine erhebliche Belastung für den Organismus erreichen. Für die homiothermen Lebewesen stellt die Kälte eine schwere Belastung dar. Günstige Wirkungen können nur erzielt werden, wenn man die Temperatur-Regulation, die selbst wieder direkt oder indirekt unter der Kontrolle des vegetativen Nervensystems steht, hemmt.

Durch zwei einfache Versuche an Ratten lassen sich die beiden *Grenztypen einer Unterkühlung* illustrieren: Erster Typ = maximale Abwehr, zweiter Typ = minimale Abwehr.

Das eine Tier wird in einen BARGETON-Apparat gesetzt, mit dem man jederzeit und bei jeder gewünschten Temperatur den Sauerstoffverbrauch messen kann. Wir haben den Apparat noch um eine Versuchsanordnung ergänzt, mit der man auch die Colon-Temperatur und den Herzrhythmus registrieren kann. Der Sauerstoffverbrauch wird zunächst bei

29,5° (thermisch neutral) gemessen, dann wird das Wasser aus dem Thermostaten rasch abgelassen und durch Wasser von 7° ersetzt.

Bei dem Kontrolltier (Abb. 1) beträgt der Sauerstoffverbrauch anfangs 2,5 cm³/min/100 g und steigt dann auf 5,5. Dies bedeutet, daß das Tier sich gegen die Unterkühlung wehrt. Tatsächlich gelingt es dem Tier, seine Temperatur 2 Std lang auf dem gleichen Niveau zu halten, bis schließlich der Regulationsmechanismus ausgeschaltet wird. Dann fällt die Körpertemperatur ab, das Tier geht schließlich ein.

Hier haben wir es mit maximaler Abwehr zu tun. Um seine Temperatur beibehalten zu können, setzt der Organismus alle seine Reaktionen in

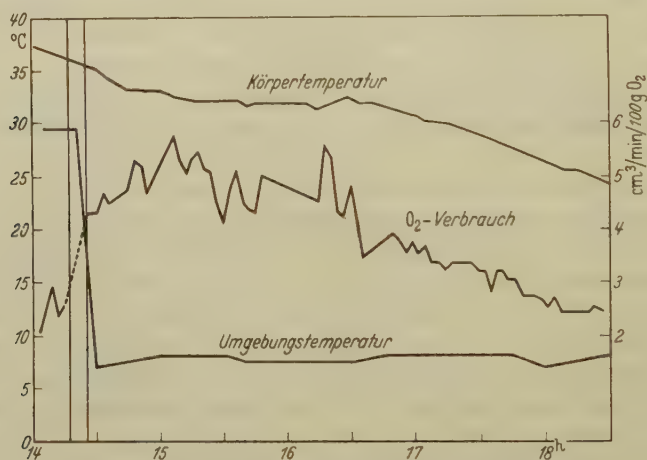


Abb. 1. Unterkühlung einer Ratte (Kontrolltier); maximale Abwehr.

Gang, bis er schließlich zugrunde geht, weil alle seine Reserven verbraucht sind.

Der anderen Ratte (Abb. 2) wurde Präparat 4560¹ injiziert, nachdem man vorher ihren Sauerstoffverbrauch bei 29,5° (3,2 cm³ in diesem Falle) bestimmt hatte. Der Stoffwechsel dieses Tieres fällt auf 2,2 ab. Dann wird, wie auch bei dem Kontrolltier, die Umgebungstemperatur auf 7° gesenkt. Der Stoffwechsel steigt kaum merklich an (zwischen 3 und 4). Die Körpertemperatur fällt sofort ab. Das Tier wehrt sich nicht gegen die Kälte und kühlt fast ebenso wie ein physikalischer Körper aus. Wenn das Tier auch schließlich in einen Zustand von Scheintod verfällt, so kann es hieraus doch leicht wieder zum Leben erweckt werden.

Hier haben wir es mit einer minimalen Abwehr zu tun. Die Reaktionen des Organismus sind durch die Wirkung von 4560 verlangsamt. Präparat 4560 ist ein synthetisches Phenothiazinderivat. Es wirkt neuroplegisch

¹ Präparat 4560 ist jetzt in Deutschland unter der Bezeichnung Megaphen im Handel (der Übers.).

auf den Parasympathicus, vor allem aber sympathikolytisch und adrenolytisch und setzt die Temperatur und den Stoffwechsel herab.

Aus diesen beiden einfachen Versuchen geht folgendes hervor:

1. Die Temperatur eines Organismus, dessen vegetatives Nervensystem blockiert ist, geht spontan herunter. Wenn man nämlich das vegetative Nervensystem durch Medikamente ruhigstellt, wirkt die Kälte unmittelbar auf die Gewebsverbrennungen und vermindert sie.

2. Im Zustand der „vita minima“ durch Ruhigstellung des vegetativen Nervensystems ist die Resistenz des Organismus gegenüber Hypo-

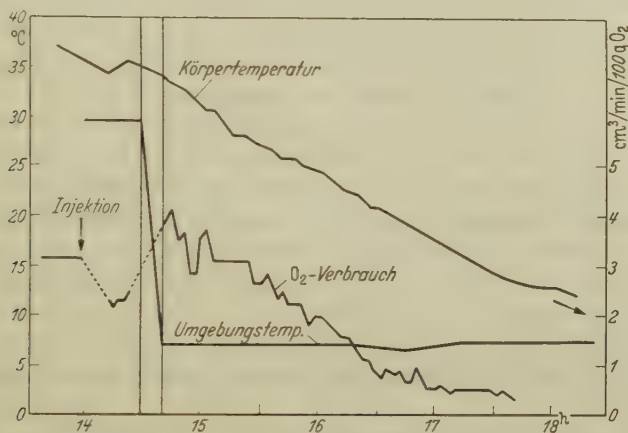


Abb. 2. Unterkühlung einer Ratte (mit 4560 injiziert): minimale Abwehr.

thermie gesteigert. Das auf diese Weise verlangsamte Leben geht dann auf einer Stufe weiter, die eindeutig unter der Grenze der üblichen Letalität liegt.

Experimentelles zur pharmakologischen Hibernisation.

Wir haben Versuche an Hunden, Kaninchen und weißen Ratten durchgeführt. Jede dieser Tiergruppen hat für diese Experimente gewisse Vor- bzw. Nachteile. Die weiße Ratte besitzt ein widerstandsfähiges Herz und eine leicht steuerbare Thermoregulation. Der Hund dagegen hat ein weniger stabiles Herz, so daß von den an ihm erzielten Versuchsergebnissen eher auf die Verhältnisse beim Menschen geschlossen werden kann.

I. Hibernisationstechnik beim Hund.

Im Verlaufe unserer Arbeiten wurde folgende Technik entwickelt: zu Beginn injizierten wir das Gemisch zur Stabilisierung des vegetativen Nervensystems ziemlich rasch. Wir stehen jetzt auf dem Standpunkt, daß

besonders für die Eingriffe am Herzen die gleiche Technik, wie sie beim Menschen zur Anwendung kommt, zweckmäßiger ist.

Das allgemeine Schema ist folgendes: der Hund wird geschoren, auf dem Tisch festgebunden. Ein Polythenkatheter wird in eine V. saphena eingebunden. Dann wird das verdünnte Gemisch auf einmal oder in mehreren Gaben injiziert, und zwar in einer Dosis, die zur Erzielung eines ganz charakteristischen Somnolenzzustandes ausreichen muß. $\frac{1}{2}$ Std später wird das Narkoticum injiziert. Zu Anfang benutzten wir Chloralose in einer Maximaldosis von 0,05 g/kg, später verwendeten wir Nembutal¹. Wir geben hiervon eine gerade zur Narkose ausreichende Dosis.

Falls die Temperatur im Laboratorium nicht zu hoch ist, kühlt der Hund spontan ab. Nach 2 Std beträgt seine Temperatur gewöhnlich 31 bis 32°. Man kann die Abkühlung durch Verwendung von Eisbeuteln beschleunigen. Auf diese Weise kann die Temperatur innerhalb von $2\frac{1}{2}$ Std auf 28° gesenkt werden. Tatsächlich läßt sich die Hypothermie nach Belieben beschleunigen oder verlangsamen und dann auf dem gewünschten Stand halten. Das Tier darf allerdings niemals frösteln.

Bei unseren Versuchen hielt sich die gesenkte Temperatur zwischen 30 bis 32° und 24, 21 oder sogar 18°. Das Temperaturoptimum dürfte zwischen 28° und 31° liegen. Unter 26 oder 25° treten häufiger schwere Zwischenfälle auf.

Bei längerer Versuchsdauer — und das ist die Regel — hält man die Potenzierung mit einer langsam einfließenden intravenösen Infusion aufrecht.

Wir haben zahlreiche *pharmakologische Mittel* angewendet bzw. anzuwenden versucht. Die wichtigsten hiervon sind: Präparat 4560, Phenergan², Pethidin³, Diparcol⁴, Hydergin, Novocain, Spartein, Magnesiumsulfat, Procainamid. Letzteres hat auf das Hundeherz eine depressorische Wirkung, weshalb wir es bei unseren Versuchen nicht weiter verwendeten. Nach vielen Versuchen haben wir als beste *Mischung* die auch beim Menschen verwendete und mit M_1 bezeichnete (4560, Phenergan, Dolosal) herausgefunden. Als Ausgangsdosis wählen wir 4 mg/kg Phenergan und 4560 und 8 mg/kg Dolosal⁵.

Nebenbei sei bemerkt, daß diese Mischung auch für die Ratte am geeignetsten erscheint. Bei Ratten injizieren wir i. p. zweimal, mit einer

¹ Nembutal (ABBOTT) = Natriumsalz der Äthyl-1-methylbutylbarbitursäure (der Übers.).

² Phenergan ist chemisch identisch mit dem in Deutschland handelsüblichen Atosil (der Übers.).

³ Pethidin ist chemisch identisch mit dem in Deutschland handelsüblichen Dolantin (der Übers.).

⁴ Diparcol ist chemisch identisch mit dem in Deutschland handelsüblichen Latibon (der Übers.).

⁵ Dolosal ist chemisch identisch mit Dolantin (der Übers.).

Viertelstunde Abstand, insgesamt 2 mg 4560, 2 mg Phenergan und 4 mg Dolosal je 100 g Körpergewicht. Je nach der gewünschten Hibernisationsdauer sind später weitere, meist fallende Dosen der Mischung nachzuinjizieren. Ist die Raumtemperatur nicht zu hoch, so sinkt die Temperatur des Tieres spontan und kann ohne Schwierigkeiten zwischen 28 und 32° gehalten werden.

Zur Zeit gehen wir bei *progressiver Hibernisation* nach folgender Technik vor:

Der Hund, der seit dem Vortag hungert, erhält i. m. 3 mg/kg Phenergan und 6 mg/kg Dolosal. Dann wird er geschoren. 1½ Std später etwa wird mit der langsamen i. v. Infusion folgender Mischung begonnen:

Isotonische Kochsalzlösung	125 ml
Vitamin B ₆	100 mg
Vitamin B ₁	200 mg

In den Infusionsschlauch spritzt man viertelstündlich in 5 oder 6 Einzeldosen insgesamt 4 mg/kg Phenergan, 4 mg/kg 4560 und 8 mg/kg Dolosal. Die Rectumtemperatur muß regelmäßig ohne besondere Unterkühlung absinken. 15 min nach der letzten Injektion der Neuroplegia injiziert man ungefähr 15 mg/kg Nembutal. Ist diese erste Infusion eingeflossen, beginnt man mit einer Dauerinfusion, die beispielsweise 25 mg Phenergan, 50 mg 4560, 100 mg Vitamin B₆ und 200 mg Vitamin B₁ enthält.

Es ist anscheinend vorteilhafter, statt einer Nembutal- eine Pentothal-Narkose vorzunehmen. Wird dieses Narkoticum in genügender Dosis von Beginn der Vorbereitung des Hundes an injiziert, so wird jegliche Erregung des Tieres während der Einleitung der Hibernisation vermieden. Wir neigen auch dazu, die Dolosal-Dosen zu vermindern.

Bei einer gewissen Anzahl von Hunden (19) haben wir während der ganzen Versuchsdauer Hypoxie mit mäßiger Hyperkapnie dadurch erzielt, daß wir die Tiere im geschlossenen System aus einem Spirometer atmen ließen, das 70 oder 80 l Luft enthielt. Der Inhalt der Glocke wurde in regelmäßigen Abständen analysiert und so verdünnt, daß der CO₂-Gehalt in den gewählten Grenzen blieb (zwischen 1,5 und 6%). Parallel damit schwankte der Sauerstoffgehalt zwischen 16 und 11%. Diese Technik, die GIAJA und seine Mitarbeiter in etwas anderer Form zunächst bei Ratten anwendeten, erschien uns aus theoretischen Überlegungen zweckmäßig. Aus den Arbeiten von CORDIER, MAGNE und ANDRÉ MAYER und aus denen von GIAJA geht tatsächlich hervor, daß Hypoxie eine Stoffwechsel-Herabsetzung herbeiführt. Andererseits erscheint uns eine gewisse Hyperkapnie wegen der erregenden Wirkung des CO₂ auf das Atemzentrum und wegen der Durchblutungssteigerung von Hirn und

Kranzgefäßen vorteilhaft. Schließlich kann CO_2 auf Grund des BOHR-Effektes die Hämoglobin-Dissoziationskurve, die durch Hypothermie nach links verschoben ist, wieder nach rechts zurückbringen. Das Verfahren schien in der Mehrzahl der Fälle günstige Auswirkungen zu haben. Allerdings sind weitere Versuche, die zur Zeit bei uns laufen, zur Erklärung der Wirkung erforderlich.

Wie nicht anders zu erwarten, wiesen die hibernisierten Tiere eine erstaunliche Resistenz gegenüber der Asphyxie auf. Wenn wir diese Frage auch nicht systematisch untersucht haben, so können wir doch folgende Tatsachen erwähnen:

Nach kompletter Luftröhrenunterbindung atmete ein Hund bei $30,5^\circ$ noch $6\frac{1}{2}$ min weiter, das Herz schlug noch $13\frac{1}{2}$ min. Ein anderer Hund atmete bei einer Temperatur von $29,2^\circ$ noch 6 min, das Herz schlug noch 10 min. Ein drittes Tier (Temperatur $21,5^\circ$) atmete noch 19 min, ebensolange schlug auch noch das Herz. In diesen 3 Fällen war der durch Asphyxie bedingte Blutdruckanstieg minimal (um 10—15 mm Hg).

Erwähnt sei hier noch der Fall (Hund 139), bei dem wir nach 5stündiger Hibernisation bei einer Temperatur von 28° reines Leuchtgas atmen ließen. Die letzte Atembewegung wurde nach 4 min registriert, während das Herz noch 10 min lang schlug. Nach eingetretenem Atem- und Herzstillstand ließen wir den Hund weitere 8 min liegen. Dann wurde der Thorax rasch eröffnet, Herzmassage und künstliche Atmung durchgeführt, dies alles also 22 min nach völliger Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr und CO-Vergiftung. 33 min später begann das Herz wieder zu schlagen. Der Thorax wurde wieder verschlossen, und 1 Std danach setzten die spontanen Atembewegungen allmählich wieder ein, ein Beweis dafür, daß eine irreversible Lähmung des Atemzentrums nicht vorgelegen hat.

An *Untersuchungsmethoden* von allerdings noch nicht in genügendem Umfang durchgeführten Untersuchungen und Messungen sollen noch erwähnt werden:

— Temperaturmessung mit „thermocouple“, das tief ins Rectum eingeführt wird;

— Blutdruck, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Atemvolumen nach den üblichen bekannten Methoden;

— Sauerstoffverbrauch wird mit der Apparatur nach BENEDICT in geschlossenem System nach Einlegen einer Kanüle in die Luftröhre gemessen;

— Entnahme von arteriellem Blut mit einer T-förmigen in die Carotis eingelegten Kanüle, von Venenblut aus einem Katheter, der durch eine V. jugularis in das rechte Herz eingeführt ist. Der Gasgehalt des Blutes wird mit dem HALDANE-Gerät oder nach der Manometer-Methode nach VON SLYKE gemessen:

- Hämatokrit nach der gravimetrischen Methode nach PHILIPPS und VON SLYKE;
- Blutzucker;
- und schließlich EKG mit s. c. eingeführten Silbernadeln.

II. Verlauf einer kurzdauernden Hibernisation.

Bevor wir uns mit der Frage des Schocks unter Hibernisation befassen, will ich als Beispiel den Verlauf einer kurzdauernden Hiberni-

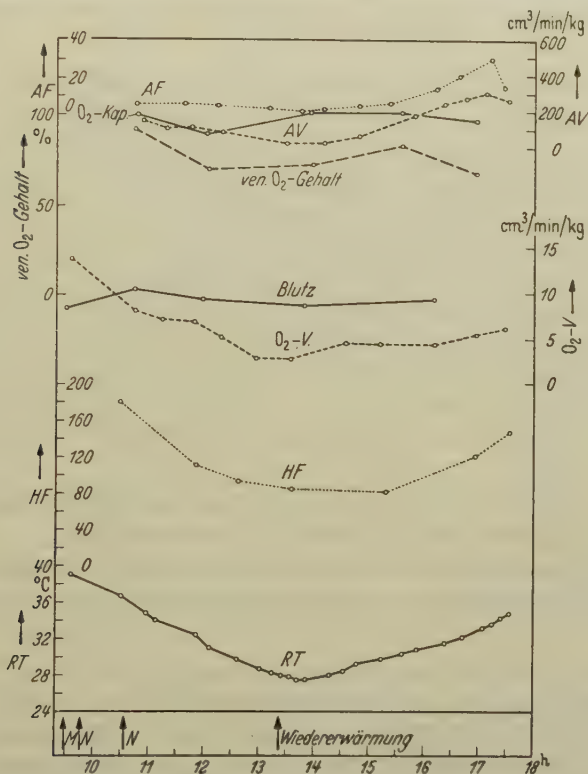


Abb. 3. Verlauf einer kurzdauernden Hibernisation beim Hund.

Abkürzungen in den Abbildungen. AF Atemfrequenz; O₂Kap Sauerstoffaufnahmevermögen des Blutes; AV Atemvolumen (cm³/min/kg); ven. O₂-Gehalt % venöser Sauerstoffgehalt; O₂V Sauerstoffverbrauch (cm³/min/kg); Blutz. Blutzucker; HF Herzfrequenz; RT Rectum-Temp.; M Injektion der Mischung M₁; N Nembutal-Inj.; BD arterieller Blutdruck; B₁ 1. Blutung; B₂ 2. Blutung.

sation mit nachfolgender Wiedererwärmung beim Tier beschreiben. Da das Tier am Leben erhalten wurde, wurden hier keine Arterienkanülen eingelegt.

Es läßt sich feststellen, daß die verschiedenen Kurven (Abb. 3) annähernd parallel laufen:

— Die *Temperatur* geht in diesem Versuche (Hund 125) innerhalb von $4\frac{1}{2}$ Std von 39° auf 27° herunter und wird innerhalb von 4 Std wieder auf 34° heraufgebracht. Der Hund wachte am folgenden Morgen wieder auf und zeigte am Nachmittag wieder normale Lebensgewohnheiten.

— Die *Herzfrequenz* folgt der Temperaturkurve ganz exakt, oder genauer gesagt, der Herzrhythmus ist von der Temperatur im rechten Herzen abhängig. Wir haben das auch experimentell nachgewiesen, indem wir die Herzgegend mit Kurzwellen erwärmten und so einen Temperaturunterschied von mehreren Graden zwischen Rectum- und Herztemperatur erzielen konnten.

— Der *Stoffwechsel* geht von Anfang an mit der Temperatur herunter, ohne die sonst übliche Steigerung als Abwehrmaßnahme gegen die Kälte. Es ist schwierig, den Ausgangspunkt der Stoffwechselkurve festzulegen, denn dazu hätte man den Grundumsatz (GU) aller Hunde messen müssen. Die ersten Messungen wurden entweder am wachen Hund durchgeführt, wobei die erhaltenen Werte höher liegen als die des GU, oder sie wurden beim narkotisierten und noch nicht abgekühlten Hund vorgenommen, und dann waren die Werte niedriger als der zu erwartende GU. Wenn als Ausgangspunkt bei $38\text{--}39^\circ$ auf 6 und 7 $\text{cm}^3/\text{min}/\text{kg}$ Sauerstoffverbrauch gewählt wird, haben wir festgestellt, daß der Verbrauch bei $28\text{--}30^\circ$ auf 3—4 und bei 20° auf 2—2,5 $\text{cm}^3/\text{min}/\text{kg}$ absinkt. Diese Zahlen beziehen sich alle auf den Stoffwechsel des narkotisierten Hundes.

— Die *Atemfrequenz* und das *Atemvolumen*, ausgedrückt in $\text{cm}^3/\text{min}/\text{kg}$ gehen im allgemeinen mit der Temperaturkurve parallel.

— Die *Sauerstoff-Aufnahme* des Blutes und der Prozentsatz der venösen Sauerstoffsättigung — in diesem Falle sehr hoch — veränderten sich wenig.

— Die *Blutzucker-Kurve*. Bei diesem Versuch hielt sich der Blutzucker in normaler Höhe. Das ist aber nicht immer der Fall. Sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei hibernisierten Tieren — ob sie einem hämorrhagischen oder traumatischen Schock ausgesetzt werden oder nicht — verläuft die Blutzuckerkurve ganz verschiedenartig. Entweder bleibt der Blutzucker unverändert, oder es besteht eine mehr oder weniger hohe Hyperglykämie, die entweder nachläßt oder während der gesamten Versuchsdauer bestehen bleibt. Dagegen wurde Hypoglykämie in keinem Falle beobachtet. Bisher können wir uns diese Unterschiede im Verhalten des Blutzuckers nicht restlos erklären. Es hat immerhin den Anschein, daß der Kohlenhydrat-Stoffwechsel im Verlaufe der pharmakologischen Hibernisation gestört ist. Die Blutzucker-Veränderungen, die nach Injektion von Traubenzucker bzw. nach Injektion von Insulin auftreten, sind zeitlich erheblich verkürzt.

Tiexperimenteller Schock.

Seit Beginn unserer Tierversuche haben wir uns bemüht, eine Technik zu entwickeln, mit deren Hilfe man leicht einen zu einem irreversiblen Zustand führenden Schock reproduzieren kann. Wir haben Versuche mit hämorrhagischem, später mit traumatischem Schock unternommen.

Drei Einschränkungen mußten wir machen:

a) Die Tiere der Kontrollreihen stellen keine wirklichen Kontrollen dar, weil auch sie mit Barbitursäurepräparaten narkotisiert wurden. Eine solche Narkose, vor allem, wenn sie mit Nembutal durchgeführt wird, schützt die Tiere in gewissem Maße gegen eine Belastung, sei es auch nur indem sie die zentripetalen Effekte der Aggression dämpft, den Stoffwechsel senkt und die Wärmeregulation zu blockieren beginnt. Hiermit erklären sich unseres Erachtens die von amerikanischen Autoren, in letzter Zeit auch von JUVENELLE, LIND und WIGELIUS erzielten Teilergebnisse im Tierversuch und die weniger günstigen Ergebnisse, die ALLEN und TEMPLE FAY beim Menschen erzielen konnten.

b) Wir haben mit Hunden gearbeitet, die nach Alter und Rasse ganz verschieden waren, ausgesprochene Bastarde, deren Herkunft und Vorgeschichte uns gänzlich unbekannt waren. So darf man sich nicht wundern, wenn die Reaktionen bei den einzelnen Tieren bei der gleichen Aggression recht verschieden ausfallen. In jeder Versuchsreihe hat eines der Kontrolltiere dem Schock fast ebenso gut widerstanden, wie das hibernisierte Tier, ohne daß wir uns diese Tatsache erklären konnten. Wüßten wir es, so wäre das Schockproblem gelöst.

c) Die Schocks, wie wir sie auslösen, sind sehr schwere, unbedingt tödliche Schocks. Aus diesem Grunde haben wir die Tiere nach dem Auftreten des Schocks nicht behandelt und nur die Entwicklung der Dinge bei den hibernisierten Tieren verfolgt.

A. Hämorrhagischer Schock.

Zunächst befaßten wir uns mit dem hämorrhagischen Schock. Wir wollen uns erst einmal über die Begriffe einig werden, weil man früher Schock und Blutung nicht definieren konnte. Heute ist man der Auffassung, daß eine massive Blutung ein Ereignis ist, das sich vom Schock ganz allgemein erheblich unterscheidet. Eine Blutung mit anschließendem Bestehenbleiben eines niedrigen arteriellen Blutdruckes führt aber nach unterschiedlicher Zeitdauer zu einem wirklichen, irreversiblen Schockzustand. Besonders WIGGERS hat diese Tatsachen in seinen Arbeiten nachgewiesen. Im Augenblick des Todes besitzen unsere Tiere wohl ihre gesamte Blutmenge wieder, trotzdem sterben sie.

Wir gehen nach einer *Technik* vor, die von der Methode WIGGERS und der von DELORME abgeleitet ist. Den Hunden wird Heparin (5 mg/kg)

injiziert, dann werden sie wie üblich vorbereitet. Allerdings wird in eine A. femoralis eine T-förmige Kanüle eingebunden, die mit einer aufgehängten Flasche mit Kubikzentimeter-Einteilung verbunden ist. In diese Flasche läßt man das Tier bluten. Damit wird das Arterien-System dem atmosphärischen Druck ausgesetzt. Der arterielle Druck hängt von der Höhe des oberen Blutspiegels in der Flasche über dem Herzen ab. Diese Höhe legten wir für unsere Versuche auf 48 cm fest, so daß sich der Blutdruck zwischen 35 und 40 mm Hg hielt. Steigt der arterielle Druck, so blutet der Hund aufs neue, sinkt der Druck, so fließt das Blut aus der Flasche zurück ins Gefäßsystem. An der Blutmenge in der Flasche können also die Veränderungen des Gefäßtonus abgelesen werden.

Unsere Versuchstiere (20 Hunde) wurden möglichst auf ihrer Normaltemperatur gehalten. Nachdem das Blut in der Flasche sein maximales Niveau erreicht und dieses eine bestimmte Zeit gehalten hat, fließt es allmählich zurück. In diesem Augenblick ist auch der arterielle Druck abgefallen, und das Tier geht ein. Bei den ersten 4 Hunden war die Überlebensdauer nach einer einmaligen Blutung recht lang und vor allem sehr verschieden (3 Std 20 min bis 8 Std 30 min). Darauf änderten wir unsere Technik ab. 2 Std nach der Beginn Blutung (B_1) injizierten wir mit dem JOUVELET-Gerät das noch in der Flasche verbliebene Blut intra-arteriell (R), und $\frac{1}{2}$ Std später lösten wir eine zweite Blutung aus (B_2). Die 2. Blutung hatte ernstere Folgen, wie auch aus der Humanpraxis bekannt ist. Der Rückfluß erfolgte im allgemeinen unmittelbar nach der 2. Blutung relativ schnell.

Unter diesen Bedingungen blieben die 16 Hunde, bei denen 2 Blutungen gesetzt wurden, durchschnittlich 3 Std 50 min nach Beginn der Blutung am Leben (Schwankungen zwischen 2 Std 35 min und 5 Std 45 min), mit Ausnahme eines Tieres, das noch nach 8 Std 45 min lebte. Der maximale Blutverlust bei der ersten Blutung betrug durchschnittlich 38 cm³/kg (Schwankung von 19—49), nach der 2. Blutung 18,7 cm³/kg (9—29). Der Blutverlust bei der 2. Blutung betrug also nur 49% des Verlustes bei der ersten Blutung. Wir haben nicht den Eindruck, daß zwischen der verlorenen Blutmenge und der Überlebenszeit ein eindeutiges Verhältnis besteht. Das bestätigt die Annahme, daß der Schockzustand weniger der Schwere der Blutung, als der Dauer der Hypotonie zuzuschreiben ist.

Neben den bekannten *Erscheinungen* (Pulsbeschleunigung durchschnittlich von 156 auf 197, Beschleunigung der Atemfrequenz von 17 auf 24, Steigerung des Atemvolumens fast auf das Doppelte, von 258 auf 456 cm³/min/kg) haben wir noch folgendes festgestellt:

— Hämokonzentration gegen Ende des Versuches in 84% der Fälle;

— plötzlicher Abfall der venösen Sauerstoffsättigung nach der Blutung, während sich die arterielle Sauerstoffsättigung nur schwach verändert;

— in einer gewissen Anzahl von Fällen (14%) blutiger Durchfall.

Aus den folgenden Kurven geht die Entwicklung des Schocks bei den Kontrolltieren hervor:

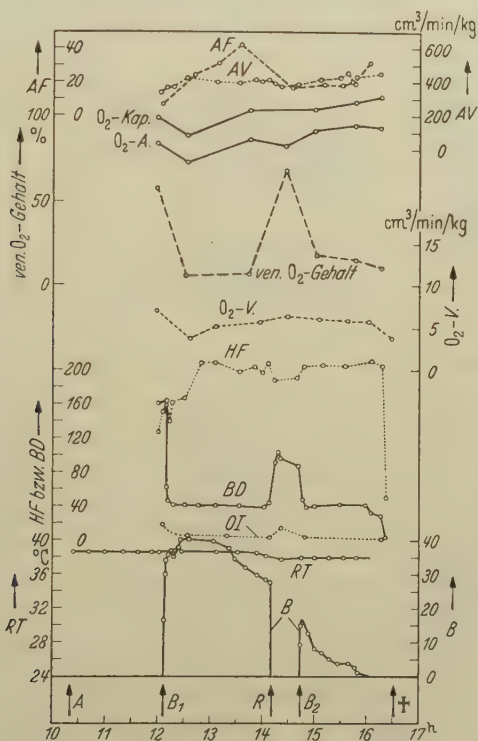


Abb. 4. Hämorrhagischer Schock (Kontrolltier).
O₂A arter. O₂-Gehalt in Sättigungs-%.

Hund 84 (Abb. 4).

Die Blutung ist in cm³/kg ausgedrückt (B). Angenommen, beim Hund betrüge die Blutmenge $\frac{1}{13}$ des Körpergewichtes, so würde ein Blutverlust von 36 cm³/kg den Verlust der halben Blutmenge bedeuten.

Die Blutung geht, bedingt durch die vasomotorischen Reaktionen, stufenweise vor sich. Der Rückfluß beginnt 1 Std nach der ersten (B₁) und unmittelbar nach der zweiten Blutung (B₂).

Der venöse Sauerstoffgehalt ist insgesamt gering, steigt im Augenblick des Rückflusses plötzlich an.

Deutliche Bluteindickung.

Hund 61 (Abb. 5).

Im allgemeinen das gleiche Bild. Stärkere Bluteindickung.

Im Augenblick, in dem die Flasche fast wieder leer war, wurden dem Hund 500 ml Periston intraarteriell injiziert. Diese Injektion führte lediglich zu einer vorübergehenden Steigerung des arteriellen Druckes (*BD*), einer Verlangsamung des Herzrhythmus (*HF*), einer Steigerung des venösen Sauerstoffgehaltes (ven. O_2 -Gehalt) mit Blutverdünnung,

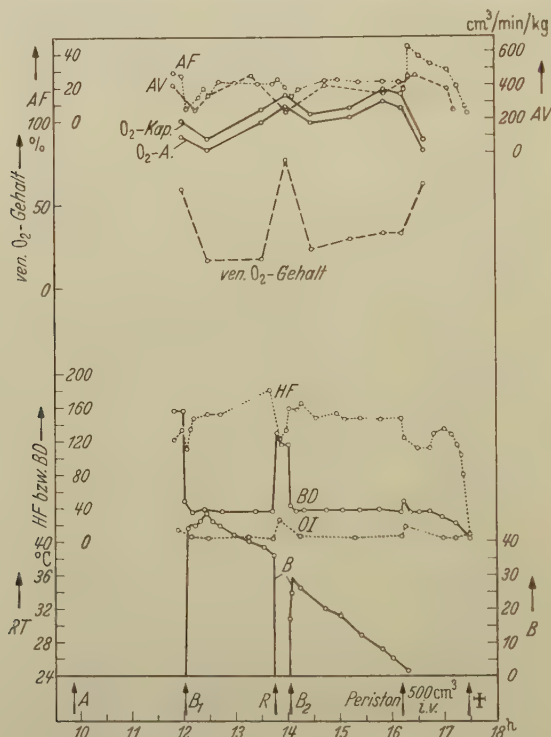


Abb. 5. Hämorrhagischer Schock (Kontrolltier).

und zu Steigerungen von Atemvolumen (*Av*) und -frequenz (*AF*). Dann trat aber rasch wieder der vorherige Zustand ein, der arterielle Druck fiel weiter ab, das Tier ging ein, wenn auch sein Tod möglicherweise um $\frac{1}{2}$ Std hinausgezögert wurde. Der Schock war wirklich irreversibel.

Bei hibernisierten Tieren (23 Hunde) entwickelte sich ein Schock auf ganz andere Art. Ein Rückfluß fand nicht statt, oder erfolgte nur sehr langsam nach einer „Stabilisationsphase“. In 17 von insgesamt 23 Fällen unterbrachen wir den Versuch $6\frac{1}{2}$ Std bis $8\frac{1}{2}$ Std nach Beginn der Blutung und töteten die Tiere (*F*).

Die restlichen 6 Tiere starben infolge Herzstillstand durchschnittlich nach 4 Std: das eine Tier ging während einer ausnahmsweise intravenös vorgenommenen Reinjektion ein, 3 andere Tiere hatten Procainamid erhalten. Bei den restlichen Tieren hat vielleicht die Herzsonde, die laut HEGNAUER, D'AMATO und FLYNN besonders bei tiefen Temperaturen eine sehr schädliche Wirkung ausübt, den Herzstillstand herbeigeführt.

Bei der ersten Blutung ging durchschnittlich $28,1 \text{ cm}^3/\text{kg}$ Blut verloren ($18,5\text{--}38 \text{ cm}^3/\text{kg}$). Dieser Mittelwert liegt also tiefer als bei den

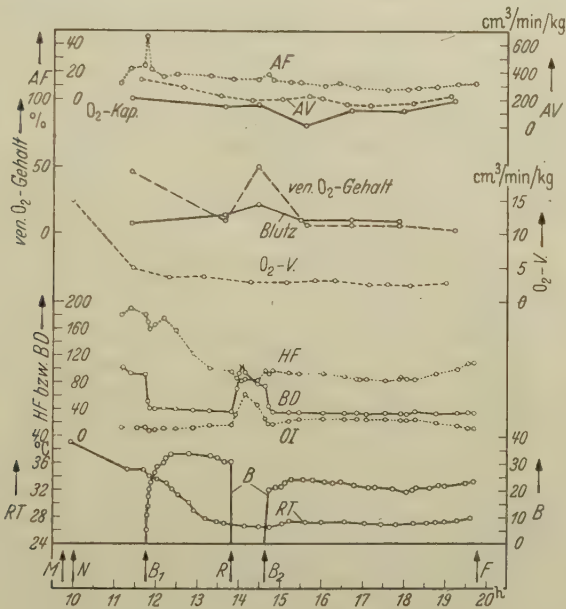


Abb. 6. Hämorrhagischer Schock (Hibernisation).

Kontrolltieren und läßt sich mit der medikamentösen Vasoplegie erklären. Der arterielle Druck betrug zu Beginn 107, gegen 142 mm Hg bei den Kontrolltieren. Bei der zweiten Blutung ging durchschnittlich $17,7 \text{ cm}^3/\text{kg}$ Blut verloren, also 63% des Blutverlustes bei der ersten Blutung, während bei den Kontrolltieren dieses Verhältnis 49% betrug. Der Herzrhythmus, der zu Beginn weniger rasch war (135), verlangsamte sich und hielt sich bei 105. Atemfrequenz (12—15) und Atemvolumen ($204\text{--}290 \text{ cm}^3/\text{min}/\text{kg}$) wurden wenig verändert. Die venöse Sauerstoffsättigung ging nach der Blutung zurück, aber nicht so stark wie bei den Kontrolltieren. Bluteindickung erfolgte nur selten und in geringem Maße.

Die Kurven (Abb. 6 und 7) zeigen die Entwicklung des Schocks bei hibernisierten Tieren:

Hund 140 (Abb. 6).

Im ganzen Verlaufe des Versuches erfolgt kein Blutrückfluß. Der Hund fängt gegen Ende des Versuches sogar wieder an zu bluten.

Die Herzfrequenz geht mit der Temperatur parallel.

Sauerstoffverbrauch niedrig. Offensichtlich steht sowohl bei den Kontroll- als auch bei den hibernisierten Tieren die Überlebensdauer in direktem Verhältnis zum Sauerstoffverbrauch.

Blutzuckerkurve bleibt normal.

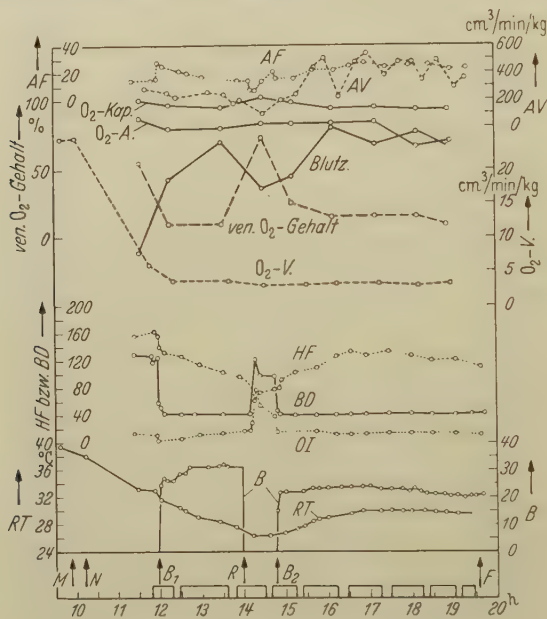


Abb. 7. Hämorrhagischer Schock (Hibernisation).

Bei diesem Hund war der Sauerstoffgehalt für ein hibernisiertes Tier anormal niedrig.

Hund 101 (Abb. 7).

Das gleiche Bild. Das Tier atmete jedoch in geschlossenem System. Jedesmal, wenn es wieder in das geschlossene System zurückgebracht wurde, kam es zu Hyperventilation und vor allem gegen Ende des Versuches zu einer Verminderung der Hämoglobinsauerstoffsättigung im arteriellen Blut.

Bei diesem Tier war außerdem eine starke Hyperglykämie festzustellen.

Wir haben diese Tierversuche noch durch kleine Versuchsserien mit 2—3 Hunden vervollständigt. Hierbei sollte die Wirkung von 4560, von

Hexamethonium ohne Hypothermie und die Hypothermie-Wirkung allein, studiert werden. Ordnet man diese Versuche nach ihrer Wirkung, so ergibt sich folgendes Bild: die wirksamste Methode ist die pharmakologische Hibernisation, dann die Hypothermie allein, dann 4560 ohne Hypothermie und schließlich Hexamethonium ohne Hypothermie. Eine Kombination von Neuroplegie und Hypothermie garantiert also den besten Schutz gegen einen Schock.

Bei 2 Hunden setzten wir mit der Hibernisation erst 75 min bzw. 2 Std nach Beginn der Blutung ein. Diese Tiere verhielten sich zunächst wie die Kontrollen, dann wie hibernisierte Tiere.

B. Traumatischer Schock.

Bei den Versuchen mit traumatischem Schock wendeten wir die Methode von HERMANN, JOURDAN und anderen an. Mit dieser *Methode* läßt sich ein Schock auslösen, der mit dem klinisch zu beobachtenden sozusagen identisch ist. Meine Kollegen aus Lyon konnten zahlreiche, gut verwertbare Schlüsse aus solchen Versuchen ziehen.

Mit einer Zange werden alle Muskeln eines oder beider Hinterbeine des Hundes zerquetscht. Muskel für Muskel muß ohne Verletzung von großen Gefäßen und Knochen zerquetscht werden. Nach sorgfältiger Blutstillung wird die Haut vernäht.

Bei unseren Kontrolltieren hielten wir uns streng an diese Technik und setzten in allen Fällen die Traumen an beiden Hinterbeinen. Diese schwierige Operation dauert durchschnittlich 50 min. Nur in einem Punkt wichen wir von der Lyoner Technik ab. Wenn man die pharmakologischen Versuchsprotokolle aus Lyon studiert, stellt man bei fast allen Versuchstieren einen sich allmählich entwickelnden Temperaturabfall fest. Die Temperatur betrug gegen Ende des Versuches 30°, 27°, sogar 20° oder 18°. Unserer Ansicht nach kann diese Hypothermie, wenn sie gering ist, die Ausbildung des Schocks verzögern.

Zu starker Temperaturabfall ist tödlich. Wir haben uns daher bemüht, die Temperatur der Tiere während der gesamten Versuchsdauer etwa auf normalen Werten zu halten. Eine gewisse Abkühlung allerdings läßt sich beim Zerquetschen der Muskeln kaum vermeiden.

Die Lyoner Autoren haben darauf hingewiesen, daß sich an heißen Sommertagen ein Schock nur sehr schwierig und sehr langsam entwickelt. Sie schreiben diesen Umstand der Tatsache zu, daß ihre Tiere normale Temperatur aufwiesen. Unsere Kontrolltiere (7) sind dagegen genau nach derselben Zeit (durchschnittlich nach 6½ Std), wie die Tiere in Lyon, eingegangen, mit Ausnahme eines Tieres, das nach 11 Std noch lebte und getötet werden mußte.

In einzelnen Fällen injizierten wir den Tieren Antibiotika, um eine eventuell infektiöse Ursache des beobachteten Schocks auszuschließen.

Einzelne Autoren haben nämlich bei Hundeversuchen ein sehr schnelles Keimwachstum beobachtet.

Abb. 8 (Hund 111) zeigt die *Entwicklung des Schocks bei einem Kontrolltier*.

Es sind hier die drei von HERMANN und JOURDAN beschriebenen *Schockphasen* zu erkennen:

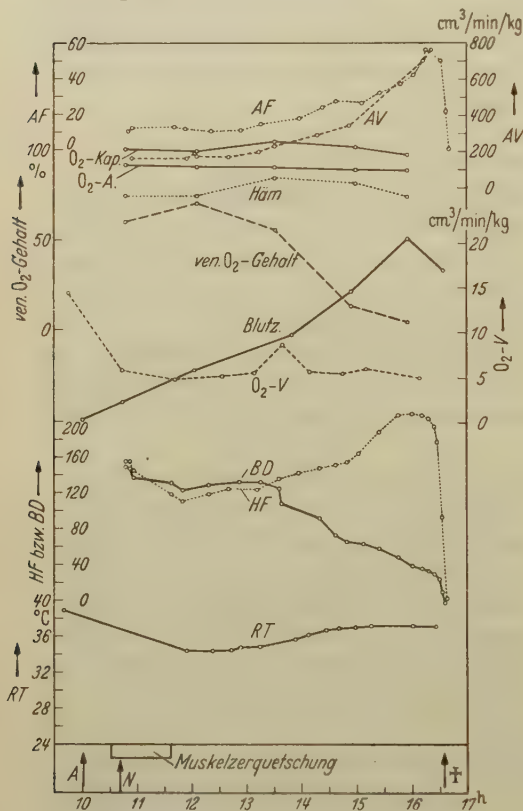


Abb. 8. Traumaticher Schock (Kontrolltier).

1. *primärer Schock*, kenntlich an einem leichten Abfall des arteriellen Drucks, sofort bei Beginn der Muskelzerquetschung,

2. *Stabilisationsphase*,

3. schließlich nach verschieden langer Zeit (in diesem Falle 2½ Std) Auftreten eines *sekundären Schocks*. Die Kurven überschneiden sich vielfach.

Der arterielle Druck fällt ab, der Herzrhythmus wird beschleunigt, der Sauerstoffgehalt des Blutes sinkt, der Atemrhythmus wird beschleunigt und das Atemvolumen vergrößert.

Bemerkenswert sind die terminale Hyperglykämie und die relativ große Stabilität des Hämatokrit (Häm.).

Die bei hibernisierten Hunden aufgezeichneten Kurven unterscheiden sich

von den Kurven der Kontrolltiere ganz wesentlich. Es vergingen Stunden ohne große Veränderungen. Von 9 hibernisierten Hunden starben 2 nach 8¾ Std bzw. 9¼ Std. Die anderen Tiere wurden 8 Std 20 min bis 12 Std 30 min nach Beginn des Traumas getötet.

Hund 107 (Abb. 9).

Vorübergehende Steigerung des Sauerstoffverbrauches im Augenblick des Traumas, Blutzuckerkurve bleibt auf gleicher Höhe. Der venöse Sauerstoffgehalt des Blutes fällt etwas ab.

Hund 114 (Abb. 10).

Der Hund atmete in geschlossenem System, was zu leichten Wellenbewegungen der Ventilationskurve führte. Um 20⁵⁰ Uhr wurde eine kleine

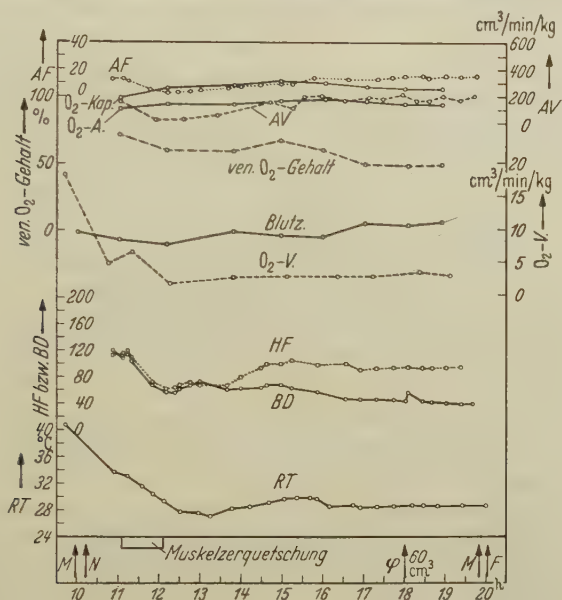


Abb. 9. Traumatischer Schock (Hibernisation).

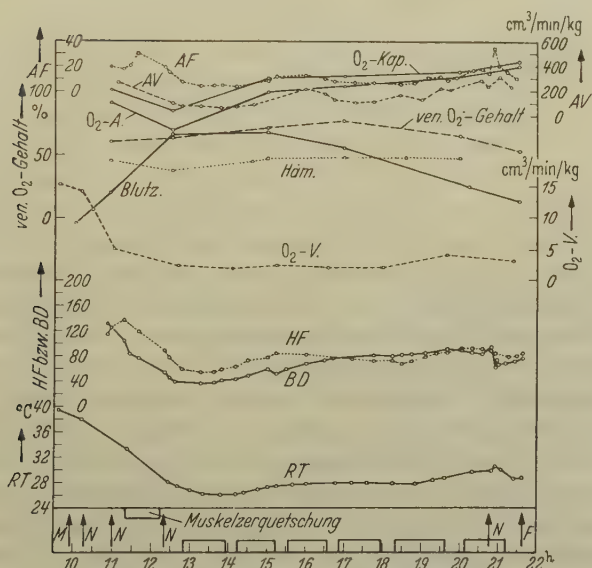


Abb. 10. Traumatischer Schock (Hibernisation).

Dosis Mischung M_1 injiziert, was auf den Kurven in Form eines vorübergehenden Rückganges des arteriellen Drucks und einer Temperatursenkung zum Ausdruck kommt. Anfangs Hyperglykämie, dann langsame Rückkehr zur Norm. Leichte Hämokonzentration.

Hund 137 (Abb. 11).

Die Kurven stellen sich in gleicher Weise dar. Hyperglykämie hält sich länger, venöser Sauerstoffgehalt niedriger. Keine Hämokonzentration.

Dies waren also in großen Zügen unsere ersten Resultate.

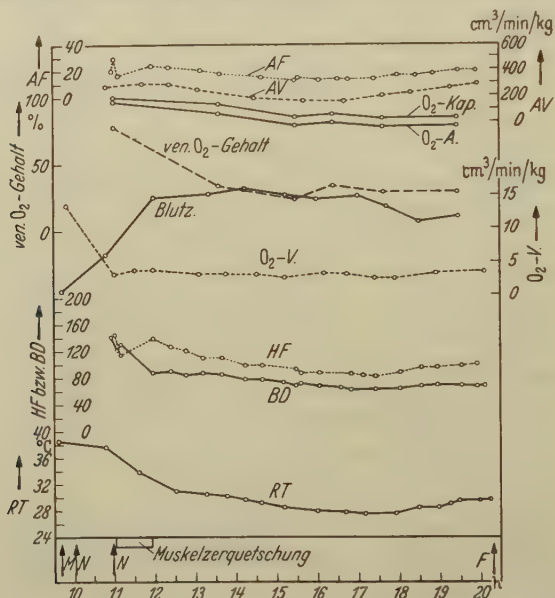


Abb. 11. Traumaticher Schock (Hibernisation).

IV. Jetzige Versuche.

Welchen Zweck verfolgen wir mit unseren jetzigen Versuchen? Die große Resistenz der Tiere gegenüber Anoxie während einer pharmakologischen Hibernisation läßt es möglich erscheinen, Herzeingriffe am blutleeren Herzen ohne künstlichen Blutkreislauf vorzunehmen. Auf diesem Gebiet arbeiten wir seit einigen Monaten zusammen mit JEAN KUNLIN.

Nach tastenden Versuchen haben wir etwa 40 Hunde aseptisch operiert. Wir haben die Hypothermie, also dadurch auch die Herabsetzung des Stoffwechsels, noch nicht sehr weit getrieben, im allgemeinen auf 27 oder 28. Der Eingriff besteht in einer breiten Eröffnung der rechten Herzkammer und digitalen Austastung derselben. In einigen Fällen wurde außerdem nach Abklemmen der V. azygos und der beiden Hohlvenen eine Schädigung der Pulmonalklappen gesetzt.

Die Blutzirkulation wurde etwa 5—16 min lang unterbrochen. In einigen Fällen kam es zu Kammerflimmern, aber Kaliumchlorid-Injektionen und Herzmassage nach LÉON BINET und STRUMZA brachten den Herzschlag immer wieder in Gang. Spontanatmung setzt 3—10 min nach Thoraxverschluß wieder ein.

Wir kommen allmählich zu immer besseren Ergebnissen. So starben bei einer Gruppe von 9 Hunden, bei denen entweder eine Insuffizienz oder eine Stenose der Pulmonalklappen gesetzt worden waren, 2 Tiere, und zwar das eine nach 12, und das andere nach 48 Std, während die restlichen 7 den Eingriff überlebten und sich völlig normal verhielten.

Wir sind jetzt so weit, daß wir Tiere, deren Kreislauf und Atmung 15 min lang unterbunden waren und deren rechte Herzkammer breit geöffnet war, tatsächlich am Leben erhalten können.

Die größten Schwierigkeiten treten postoperativ auf, weil die Hunde an Hämatothorax, Thrombosen, vor allem an Lungenkomplikationen eingehen können.

Neben der Herzchirurgie setzten wir unsere Versuche auch auf dem Gebiet der tiefen Hypothermie fort, deren Bedeutung wir aus den Arbeiten von GIAJA und den Arbeiten von JUVENELLE, LIND und WIGELIUS erkannt haben. Wir hoffen, durch Neuroplegie eine tiefe Hypothermie leichter und ungefährlicher zu gestalten. Ratten, die wir rasch auf 6—7° unterkühlten, bis Atemstillstand eingetreten war, und deren Herzkontraktionen aufhörten, was am Verschwinden der EKG-Zacken erkenntlich war, konnten in den meisten Fällen wiederbelebt werden.

Die Deutung und Aufklärung der physiologischen Veränderungen unter pharmakologischer Hibernisation wird uns noch lange beschäftigen. Gleich zu Beginn taucht ein schweres Problem auf: *wie kann man bei Tieren tiefe und langdauernde Hibernisation durchführen?* Viele Probleme sind erst zu lösen, wenn Tiere lange genug hibernisiert werden können. Zur Zeit ist es noch schwierig, über 3 oder 4 Tage hinauszugehen, sowohl bei Hunden als auch bei Kaninchen und Ratten. Liegt der Fehler bei uns? Die Zukunft wird es lehren.

Sollten alle Probleme die zu lösen sind, aufgezählt werden, so käme dies einer Verlesung aller Kapitel eines Pharmakologie-Handbuches gleich. Die experimentellen Forschungen in Frankreich und in anderen Ländern gehen in steigendem Maße weiter, und ihre Ergebnisse werden sich allmählich koordinieren. Sie bestätigen und präzisieren die Ruhigstellung des Organismus in pharmakologischer Hibernisation. Es hat sehr wohl den Anschein, daß diese Hibernisation im wesentlichen auf eine Herabsetzung und vielleicht auch auf eine Veränderung des Gewebsstoffwechsels hinausläuft. Bekanntlich ruft Chloropromazin (4560) eine Verminderung des Sauerstoffverbrauchs der Nervengewebe hervor. Diese

Tatsache wird durch noch unveröffentlichte Arbeiten von L. PERUZZO bestätigt. Man könnte sich andererseits fragen, ob die allgemeine Stoffwechselreduktion bei hibernisierten Tieren einer Verringerung des Gasstoffwechsels mit nachfolgendem Sauerstoffmangel entspricht. Wir haben gemeinsam mit J. DELGA feststellen können, daß Blausäure bei hibernisierten Tieren weniger giftig wirkt als bei nicht-hibernisierten. Kontrolltiere gehen bei intravenöser Injektion von 0,1 mg CN je Minute und Kilogramm Körpergewicht nach 13 min 15 sec (11—14 min) ein, während die hibernisierten Tiere erst nach 20 min (17—23 min) eingehen.

L. ROBERT hat vor kurzem eine scharfsinnige Erklärung der günstigen Wirkung der Hibernisation auf die Fermentwirkung der Gewebe gegeben.

A. JENTZER, ferner BOBBIO, GOFFRINI und BEZZI (Parma), außerdem J. CAHN, G. GEORGES und DUBRASQUET haben die endokrinen Funktionen bei Hibernisation untersucht. Auf Grund dieser ersten Versuchsergebnisse könnte man auf eine Ruhigstellung der Schilddrüse schließen.

Die gleiche Forschergruppe aus der Pitié unter der Leitung von J. CAHN hat sich mit dem Studium der Herzfunktion unter Hibernisation (intracardialer Druck, Herzrhythmus, Veränderungen des EKG bei verschiedenen Temperaturen), der Entwicklung von Myokardinfarkten nach Abbinden eines Coronarastes, der Veränderungen der cerebralen elektrischen Erregbarkeit und deren Abhängigkeit von Temperatur und Dauer der Kreislaufunterbrechung befaßt.

Es bleibt noch sehr viel zu tun, und die ganze Arbeit kann nur bewältigt werden, wenn die in einer möglichst großen Zahl erzielten Resultate der verschiedenen Fachdisziplinen zur Bewertung herangezogen werden.

Welche Schlüsse kann man heute schon aus den Hibernisationsversuchen ziehen?

Neurovegetative Stabilisierung mittels pharmakodynamischer Substanzen ermöglicht und verstärkt eine Hypothermie. Alle Reaktionen sind für den Kampf gegen die Gefahr einer unzureichenden Sauerstoffversorgung der Gewebe, die sich klinisch in Form eines Schocks darstellt, günstig. Die Überlebensdauer der Tiere nach Blutung oder Trauma steht in direktem Verhältnis zu der Herabsetzung ihres Sauerstoffverbrauches. Die schädlichen Reaktionen des Schocks werden unterbunden.

Die Experimente wurden in einer Zeit von mehr als 2 Jahren im Pharmakologischen Zentral-Laboratorium des Gesundheitsdienstes von einer Gruppe von Forschern (mit H. LABORIT, J. KUNLIN, Madame S. RICHARD und mir selbst) durchgeführt, die unter der Leitung unseres Oberstarztes C. JAULMES steht.

Literatur.

BÉNITTE, A. C.: Les accidents généraux dus au froid. *Rev. du Corps de Santé Militaire* 4, 347 (1950). — BOBBIO, A.: Applicazioni cliniche e ricerche sperimentali a proposito dell'ibernazione artificiale nel trattamento della malattia postoperatoria. *Boll. e Mem. Soc. Piemontese di Chir.* vol. XXII, 11, 654 (1952). — CAHN, J.: DUBRASQUET M. et G. GEORGES: Réactions hypophyso-surrénales pendant l'hibernation. *Anesth. et Analg.* 1, 80 (1953). — CAHN, J.: DUBRASQUET, M., GEORGES, G. et R. PIERRE: Corps thyroïde et hibernation artificielle. — *Anesth. et Analg.* 3, 397 (1953). — CAHN, J., M. DUBRASQUET et J. M. MELON: Action de l'anesthésie potentialisée et de l'hibernation sur l'infarctus expérimental du myocarde. *Anesth. et Analg.* 1, 89 (1953). — GAUJARD, R.: Le choc traumatique. Thèse de la Faculté de Médecine de Lyon 1946. — GIAJA, J.: Sur la physiologie de l'organisme refroidi. *Press. Méd.* 7, 128 (1953). — GOFFRINI, P., et E. BEZZI: Azione protettiva del blocco farmacologico del sistema nervoso vegetativo nei fenomeni dello shock traumatico primario. *Minerva med. (Torino)* 44, 347 (1953). — HERMANN, H., F. JOURDAN, J. LAFLAQUIERE et P. MAITRE: Expériences sur le choc traumatique expérimental et ses périodes. *Lyon Chirurgical* 39, 304 (1944). — JAULMES, C., J. DELGA et Mme. S. RICHARD: Intoxication cyanhydrique chez le chien soumis à l'hypothermie associée à la stabilisation neuro-végétative. *C. r. Soc. Biol. (Paris)* 13—14, 1220 (1953). — JAULMES, C., H. LABORIT et A. C. BÉNITTE: Prévention du choc hémorragique par l'hypothermie associée à la stabilisation neuro-végétative. *C. r. Acad. Sci. (Paris)* 2, 28 (1952). — JENTZER, A.: Iode 131 avec autographie, hyperglycémie, cholinestérase, choc anaphylactique, immunisation, métabolisme, thiomidie dans l'hibernation. *Journée de la Clinique Universitaire de Chirurgie de Genève*, 3 mai 1952. — JUVENELLE, A., J. LIND et C. WIGELIUS: Quelques possibilités offertes par l'hypothermie générale profonde provoquée. *Press. méd.* 44, 973 (1952). — KAYSER, CH., et G. HIEBEL: L'hibernation naturelle et artificielle des hibernants et l'hypothermie générale expérimentale du rat et de quelques hibernants. *Press. méd.* 80, 1699 (1952). — LABORIT, H., C. JAULMES et A. C. BÉNITTE: Quelques aspects expérimentaux de l'hibernation artificielle. *Anesth. et Analg.* 2, 232 (1952). — REILLY, J., et R. LAPLANE: Rôle du système neuro-végétatif au cours des infections. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, tome II du Système Nerveux de la Vie végétative, 1945. — ROBERT, L.: Action de la température sur les réactions biologiques; l'hibernation artificielle. *Bull. Acad. Méd. Paris* 21, 23, 346 (1953).

H. LABORIT (Paris): Potenzierte Narkose und künstlicher Winterschlaf.

Mit 3 Textabbildungen.

Es erübrigt sich wohl, hier über unsere Versuche zu berichten, die zum Ziel hatten, das nach jeder Aggression (Belastung) auftretende REILLY-Syndrom, das zunächst das vegetative Nervensystem betrifft, mit vago- und sympathicolytischen (vegetativolytiques) Substanzen zu unterdrücken.

Wir möchten vielmehr den heutigen Stand der Kenntnisse über die Winterschlaftechnik darlegen und dabei von den Begriffen, die wir schon des öfteren a. a. O. ausgeführt haben, nur diejenigen erwähnen, die für das Verständnis der folgenden Ausführungen wesentlich sind.

Das von REILLY nachgewiesene Phänomen (z. B. nach Reiz des linken Splanchnicus beim Meerschweinchen) ist charakterisiert durch eine immer gleichbleibende Aufeinanderfolge von Reaktionen, und zwar: Vasodilatation, Capillar-Hyperpermeabilität, Ödem, multiple viscerale Infarkte, retikulohistiozytäre Schädigungen.

Die neuen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Anatomie und Physiologie des Arteriolen-Capillar-Systems ermöglichen einen tieferen Einblick in den Mechanismus dieser Schädigungen.

CHAMBERS und ZWEIFACH haben nachweisen können, daß nach einer lokalen oder allgemeinen Aggression die vasomotorischen Phänomene aufeinanderfolgende, einander entgegengesetzte Phasen durchlaufen. Die Beobachtungen dieser Autoren decken sich mit dem mehr allgemeinen Bilde der postaggressorischen, physiologisch-biologischen Reaktionsschwankungen, wie wir sie öfters beschrieben haben. Auch LERICHE hebt hervor, daß nach einem Trauma Vasokonstriktion und lokale Vasodilatation aufeinander folgen.

Werfen wir einen kurzen Blick auf die Anatomie des Arterio-Capillar-Systems, wie sie sich aus der direkten Beobachtungstechnik von CLARK, KNISELY, PAGE und ABELL, neuerdings auch aus der Technik von CHAMBERS und ZWEIFACH ergibt. Diese Autoren haben nachgewiesen, daß Arteriole und Vene durch einen besonderen Kanal (nicht die arterio-venöse Anastomose im üblichen Sinne) miteinander verbunden werden, aus der die Capillarschlingen entspringen (Abb. 1). Diese Verbindung ist die *Metarteriole*. Man nennt sie auch „Vorzugskanal“ (canal préférentiel), weil im ruhenden Organ das Blut durch dieses Gefäß von der Arteriole zur Vene strömt. Die Mehrzahl der Capillaren ist geschlossen.

Die Capillarschlingen verlassen die Metarteriole in der Nähe der Arterie und kehren nahe der Vene zurück. Im vorderen, d. h. im arterien-nahen Abschnitt der Schlinge sitzt ein *präcapillarer Schließmuskel*, dieser fehlt an der Mündung im venösen Abschnitt.

Im Gegensatz zur Metarteriole, die sich im arteriellen Abschnitt kontrahieren kann, stellen die echten Capillaren einfache Endothelröhrchen dar.

Schließlich sind noch Kurzschluß-Gefäße vorhanden, die die Arteriole direkt mit der Vene verbinden. Es sind dies die bekannten arterio-venösen *Anastomosen*, die unter Umständen ein ganzes Capillargebiet ausschalten können.

In einem in Ruhe befindlichen Gewebe geht der normale Blutstrom durch die Metarteriole. Der kontraktile Teil der Metarteriole scheint für die rhythmischen Kaliberänderungen verantwortlich zu sein, wodurch die durchströmende Blutmenge reguliert wird. Konstriktionsphasen sind vorherrschend, die präcapillaren Schließmuskeln können auch vollständig

geschlossen werden (Abb. 1). Die Zirkulation übt dann eine „Saugwirkung“ an den nicht mit Schließmuskeln versehenen Endabschnitten der echten Capillaren aus. Hieraus erklärt sich der Zustrom von interstitieller Flüssigkeit in Richtung auf diese Gefäße (s. Pfeil). Demgegenüber sorgt, allein schon nach dem STARLINGSchen Gesetz, der hydrostatische Druck in der Metarteriole für eine umgekehrte Flüssigkeitsbewegung aus dem Inneren der Metarteriole in Richtung auf das Gewebe.

Im Wechsel hiermit treten Erweiterungen der Arteriolen auf, wodurch der Blutstrom in diesen Gefäßen verstärkt wird. Die präcapillaren Schließmuskeln können sich auch öffnen, dann kommt es zu einer Umkehr der Stromrichtung in den (richtigen) Capillaren mit Flüssigkeitsaustritt in die pericapillaren Räume.

Das sind die physiologischen Vorgänge im Ruhezustand. Wir haben Reaktionen vor uns, die harmonisch in Form von Vasokonstriktions- und Vasodilationsphasen in physiologischen Grenzen schwanken, ohne eine bestimmte Schwelle zu überschreiten. Höchstens in Körpergebieten, die sich in Tätigkeit befinden, herrschen Dilatationsphasen vor. Dadurch werden diese Gebiete entsprechend ihren gesteigerten Bedürfnissen auch besser versorgt. Ein Zustand von aktiver Hyperämie kann sich stabilisieren, so daß man fast von einem pathologischen Zustand sprechen kann. Es läßt sich dann feststellen, daß die arterio-venösen Anastomosen unbenutzt bleiben. Diese Anastomosen scheinen sich nur unter bestimmten Bedingungen, wie sie im folgenden behandelt werden, zu öffnen.

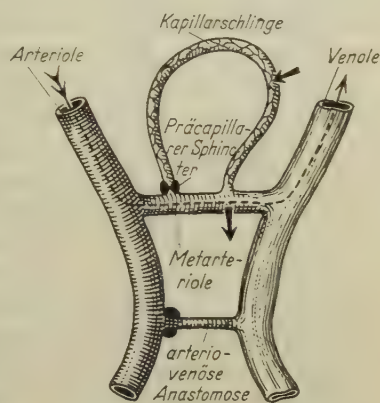


Abb. 1. Normaler physiologischer Zustand.

Postaggressorische Vasomotoren-Reaktionen.

Nach einer Aggression, vor allem nach einer traumatischen, kommt es zunächst zu einer Erweiterung der Arteriolen und Metarteriolen, die aber nur kurze Zeit anhält. Die vasomotorischen Reaktionen bestehen weiter. Die Strömung in den Metarteriolen ist verstärkt.

Als dann folgt eine kompensatorische Vasokonstriktion. Diese greift nicht nur auf die Arteriolen und Venen, sondern auch auf die Metarteriolen und die präcapillaren Schließmuskeln über (Abb. 2). Diese schließen sich. Nach unserer Auffassung handelt es sich hier um ein Phänomen, das über die physiologischen vasomotorischen Reaktionen hinausgeht und eine Ausnahmeerscheinung, also ein pathologisches Bild darstellt. Der Blutstrom findet nur noch die zahlreichen arterio-venösen

Anastomosen offen. Die Durchblutung ist eingeschränkt, worunter zuerst die Gewebsabschnitte zu leiden haben, die nicht mehr ausreichend versorgt werden.

Verschiedene Autoren sind der Ansicht, daß es sich hier um eine Schutzreaktion handelt, weil durch die Ausschaltung ausgedehnter peripherer Gebiete vorübergehend eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Zentren ermöglicht wird. Tatsächlich haben LENNOX, GIBBS u. GIBBS darauf hingewiesen, daß die Durchblutung der Zentren gesichert bleibt, da hier die Capillaren dauernd offen bleiben. FORBES u. COBB haben die gleichen Feststellungen gemacht. Wach- und Schlafzustand verändern diese Durchblutung nicht wesentlich, auch organische Aggressionen nicht.

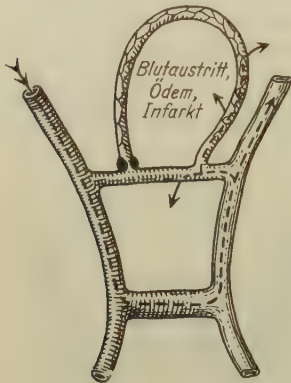


Abb. 2. Postagressorische Vasokonstriktion.

Während dieser Vasokonstriktions-Periode kann man eine gewisse Zeitlang eine Arterialisierung des Venenblutes beobachten (DAVIS). Wir selbst haben diese Erscheinung zwar noch nicht beobachten können. Ihr Nachweis ist ohne Zweifel von dem Zeitpunkt der Blutentnahme abhängig. Sie läßt sich mit der Öffnung der arterio-venösen Anastomosen ohne weiteres erklären.

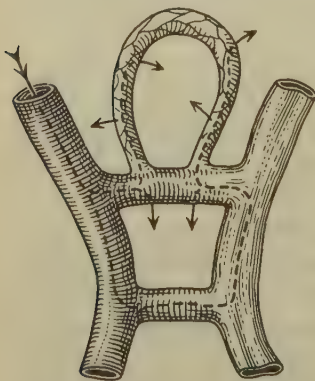


Abb. 3. Allgemeine arteriolo-capillare Atonie.

CHAMBERS u. ZWEIFACH haben nun nachweisen können, daß eine Unterbrechung der Durchblutung sich rasch einstellt, wenn die Aggression genügend stark oder langanhaltend ist, und einen Venenspasmus auslöst. Hieraus ergibt sich ein Rückwärtsströmen des Blutes in den venösen Endabschnitt der Metarteriole, dann auch der Capillaren, da ihr venöser Schenkel durch einen Sphincter nicht verschlossen werden kann. Es kommt somit zu einer retrograden Auffüllung der Capillaren, zu Blutaustritt, dann zu Anoxie und im Endstadium zu einer allgemeinen vasomotorischen Atonie (Abb. 3). Arteriolen und Venenerweitern sich, die kleinen Gefäße können sich nicht mehr rhythmisch kontrahieren und

werden Adrenalin-unempfindlich. Es handelt sich hier um den Übergang von einem sogenannten „Schutz-Phänomen“ zum Phänomen eines organischen „Versagens“. Dieses übersteigt nach Intensität und Dauer die Schwankungsbreite der harmonischen Homoeostase-Reaktionen, die ja

im allgemeinen einen physiologischen Gleichgewichtszustand unseres inneren Milieus aufrechterhalten. Die überschießende Reaktion selbst ist auf die Stärke und Dauer der Aggression zurückzuführen oder von besonderen Reaktionslagen des betroffenen Organismus abhängig. Diese sind zweifellos abhängig vom neuro-endokrinen Gleichgewicht.

Wie dem auch sei, es steht jedenfalls fest, daß die Anoxie im Bereich der Capillaren zu einer Ansammlung von Stoffwechselprodukten, wie z. B. CO_2 , Milchsäure, Histamin usw. führt. Diese besitzen bekanntlich eine arterio-capillär erweiternde Wirkung. Vor allem bewirken sie eine Öffnung der präcapillaren Schließmuskel. Der Gewebsstoffwechsel reguliert also teilweise die gestörte Gefäßfunktion. Im Schock führt dies schließlich an der Peripherie zu einer Stase in den Capillaren. Unter der Leitung von C. JAULMES haben wir bei Tierversuchen an Hunden festgestellt, daß die sogenannte *vasomotorische Atonie* in zwei Phasen abläuft. In der *ersten Phase*, während der die fortschreitende Atonie an einem langsamen Blutrückfluß aus der Flasche, in die das Tier im hämorrhagischen Schock (Technik von DELORME) geblutet hat, erkennbar ist, unterdrückt die Injektion eines vegetativen Stabilisators (4560 R. P.) diesen Blutrückfluß, es kommt meist sogar zu einer erneuten Blutung. Diese Wirkung läßt sich nur mit einer Stabilisierung des Arteriolumens in einer Zwischenstellung zwischen Vasodilatation und Vaskonstriktion erklären, da beim normalen Tier 4560 die Gefäße lediglich stark erweitert.

Im *zweiten Stadium* tritt diese Wirkung nicht mehr ein. Erst jetzt kann man nach unserer Auffassung von einem Kreislaufzusammenbruch infolge Atonie sprechen und alles weist darauf hin, daß nunmehr der Schock irreversibel geworden ist. Die Zellschädigung scheint endgültig zu sein. Man erkennt an diesem Ablauf die atonische Vasodilatation, das Ödem und den Infarkt, Symptome, die das REILLY-Phänomen charakterisieren.

Da das Vasomotoren-System unter dem Einfluß des *vegetativen Nervensystems* steht, das reflektorisch zur Geltung kommt, stellen wir uns die Frage: *Wie können wir die durch eine schwere Aggression verursachten Störungen durch eine Beeinflussung des vegetativ-nervösen Systems verhindern?*

Wirkung der pharmakodynamischen Blockade des Vasomotoren-Systems.

Die Vaskonstriktion der Arteriolen, der Metarteriolen und die Schließung der präcapillären Schließmuskeln werden über das adrenergische System herbeigeführt. Bei alleiniger Anwendung eines *Ganglioplegicum* würden diese dreifache Konstriktion unterbunden werden. Auf Arteriolen und Metarteriolen ist diese Wirkung zwar erwünscht, auf die

präcapillären Schließmuskeln aber nicht, weil dadurch das Blut in das riesige Netz dieser Gefäße fließen und es somit zur Verlangsamung der Blutzirkulation und zu einer Stase in der Peripherie — den Vorbedingungen für Anoxie und Schock — kommen würde. Diese unerwünschte Wirkung haben wir bereits 1949 während unserer ersten Tierversuche festgestellt. Der Grund für diese Erscheinung ist leicht festzustellen, wenn man den Sauerstoffgehalt des Venenblutes bei einem normalen Tier, das unter der Wirkung eines reinen Ganglioplegicums, wie beispielsweise Hexamethonium steht, bestimmt. Man stellt hierbei eine weitgehende Herabsetzung des Sauerstoffgehaltes fest. Diese Tatsache, die C. JAULMES zusammen mit uns beobachtet hat, ist danach sowohl von BIZARD, Paris, VANLERENBERGHE u. MILBLED als auch von CRUMPON, MURPHY, WITTMORE, CAPPS u. ORTH im Blut der Vena jugularis bestätigt worden.

Hieraus ergibt sich nach unserer Ansicht die Notwendigkeit, gleichzeitig ein *synthetisches Antihistaminicum* zu verwenden, das die Eigenschaft besitzt, die präcapillären Sphincteren zu schließen. Damit kommt man wieder zu normalen Zirkulationsverhältnissen in Arteriolen und Capillaren. Der Beweis hierfür ist in Tierversuchen im Laboratorium unseres Chefs, Oberstarzt JAULMES, erbracht worden (Bestimmung des Sauerstoffgehaltes des Venenblutes bei hämorrhagischem und traumatischem Schock). Es sei noch erwähnt, daß die synthetischen Antihistaminica die Capillar-Permeabilität herabsetzen und die Diffusion verringern.

Im hämorrhagischen Schock beim Hund sank die Sauerstoffsättigung des Venenblutes bei 20 Kontrolltieren durchschnittlich auf 16% ab, während sie bei den behandelten Tieren im Durchschnitt bei 32% lag.

Im traumatischen Schock nach der Technik von HERMANN (Zerreißung der Muskulatur der Hinterbeine) fällt bei 7 Kontrolltieren die Sauerstoffsättigung des Venenblutes 4 Std nach Einsetzen des Schocks auf 18% an, während sie nach dem gleichen Zeitraum bei den 7 behandelten Tieren bei 47% liegt. Bei letzteren tritt während der Dauer des Experimentes (im Durchschnitt 8 Std) kein Schockzustand auf.

Man muß sich nun fragen, was mit den arterio-venösen Anastomosen während der pharmakodynamischen Blockade der vasomotorischen Reaktionen geschieht. Wir können nicht beweisen, daß sie in einem Zustand funktioneller Ruhe zurückkehren. Nur eine direkte Untersuchung könnte hier Aufschluß geben. Immerhin führt aber die dauernde Öffnung dieser Anastomosen zur Ausschaltung eines weiten Capillargebietes, das damit in Anoxie verfällt. Wir haben Tiere hibernisiert, dann wiederbelebt. Hätte diese Öffnung auch während der Hibernisation bestanden, so hätten wir einen Sauerstoffmangel feststellen müssen, der während der Rückkehr zum normalen Zustand durch einen gesteigerten Stoffwechsel

hätte ausgeglichen werden müssen. Wir haben diese Beobachtung nicht machen können. Das berechtigt uns zu der Annahme, daß die Aufhebung der Vasokonstriktion von Arteriolen und Metarteriolen mit der Schließung der arterio-venösen Anastomosen Hand in Hand geht.

Da für das kardio-vaskuläre System eine ausreichende Gewebsversorgung ohnedies schwierig ist, darf auf keinem Fall der Bedarf des Gewebes durch Wiedererwärmung, die zu gesteigertem Stoffwechsel führt, erhöht werden. Es ist vielmehr eine Verringerung dieses Bedarfs durch allgemeine Hypothermie zweckmäßig.

Wahrscheinlich verläuft in unseren Schockversuchen die durch Hypothermie herbeigeführte Stoffwechselsenkung des Gewebes mit der Aufrechterhaltung normaler Kreislaufverhältnisse in Arteriolen und Capillaren im Sinne einer Sicherung der physiologischen arterio-venösen Sauerstoffdifferenz parallel.

Neuroplegie.

Nach dem Obengesagten könnte man den Eindruck gewinnen, daß der Schutz des Organismus durch Hemmung der vasomotorischen Reaktionen nach Aggression im wesentlichen auf periphere Vorgänge zurückzuführen sei. Das war auch lange Zeit unsere Ansicht.

Die guten Ergebnisse in Bezug auf periphere, ganglioplegische, parasympathicolytische und Antihistamin-Wirkung schrieben wir den seit Beginn unserer Versuche verwendeten *Phenothiazin-Derivaten* (Phenergan¹, Diparcol²) zu. Nun besitzen diese Mittel aber auch eine kräftige zentrale Wirkung (hypnotisch, myorelaxierend, antithermisch), die unserer Aufmerksamkeit zwar nicht entgangen war, der wir aber nicht die Bedeutung zuschrieben, die wir ihr heute beimessen.

Die Versuche auf diesem Gebiet sind besonders schwierig. Immerhin läßt sich auf Grund der zahlreichen klinischen Versuche, die besonders seit der Entdeckung des zur gleichen Gruppe gehörenden 4560 R. P. (Megaphen) durchgeführt werden konnten, annehmen, daß die peripher nachweisbare Wirkung, vor allem die vasomotorische, durch eine zentrale Hemmung bedingt ist. Der Reflexbogen wird durch diese Mittel unterbrochen, und zwar wahrscheinlich in viel stärkerem Maße in den zentralen Synapsen (Relais), als in den peripheren Gangliensynapsen und Erfolgsorganen. Auf jeden Fall stellen diese Präparate eher „Neuroplegica“ als Ganglioplegica dar. Sie greifen an mehreren Stellen an, ihre Wirkung könnte mit „multilokal“ bezeichnet werden.

¹ Mit Phenergan ist das in Deutschland handelsübliche Atosil chemisch identisch (der Übers.).

² Mit Diparcol ist das in Deutschland handelsübliche Latibon chemisch identisch (der Übers.).

Wir wollen einen Schritt weitergehen — *Hemmen diese Mittel nur das vegetative Nervensystem?* Gewisse experimentelle Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Stoffwechselvorgänge in jeder lebenden Zelle unter ihrer Wirkung verlangsamt werden. Man könnte also fast von einer „*Histoplegie*“ sprechen.

HALPERN u. a. haben bereits vor Jahren nachgewiesen, daß rote und weiße Blutzellen viel länger haltbar sind, wenn man der Konservierungsflüssigkeit Phenothiazinderivate zusetzt. PH. DECOURT hat kürzlich auf die von ihm als „narkobiotisch“ bezeichnete Wirkung dieser Präparate auf die Zellen hingewiesen.

Wir selbst haben schon seit langem beim hibernisierten Tier erhebliche Veränderungen des Kohlenhydrat-Stoffwechsels festgestellt. PERUZZO hat diese Tatsache kürzlich durch Versuche am Hirnstoffwechsel nach WARBURG erhärtet. Er hat gezeigt, daß der Sauerstoffverbrauch der Nervenzellen erheblich herabgesetzt wird. COURVOISIER u. a. waren schon zu ähnlichen Schlußfolgerungen gekommen.

Man könnte sich fast fragen, ob diese pharmakodynamische Substanzen letzten Endes nicht irgendwo in den Kohlenhydrat-Stoffwechsel eingreifen und dort eine reversible enzymatische Hemmung herbeiführen, denn bekanntlich handelt es sich im Gehirn fast ausschließlich um Kohlenhydrat-Stoffwechselvorgänge.

Wir werden sogleich sehen, welche Bedeutung diesen Tatsachen zukommt.

Potenzierte Narkose.

Was ist hierunter zu verstehen und wo liegen die Vorteile dieser Methode?

Die *Stoffwechselsenkung*, ganz gleich, ob es sich hierbei um eine zentrale Reduktion oder um eine Reduzierung infolge direkter Einwirkung der Medikamente auf alle Zellen des Organismus handelt, erklärt schon für sich allein die unerhörte Narkose-Erleichterung, die HUGENARD dazu veranlaßt hat, von einer „Narkose ohne Narkoticum“ zu sprechen.

Bezüglich der zentralen Wirkung der Phenothiazinderivate auf die Hirnfunktion sind die zahlreichen elektroencephalographischen Untersuchungen von DUPLAY u. a., EY u. BERARD, DELAY u. DENICKER, MINOT usw. von Interesse. Sie haben gezeigt, daß diese Präparate einen normalen, physiologischen Schlaf herbeiführen, und das EEG sich vor allem von dem bei üblicher Narkose unterscheidet.

Diese Stoffwechselsenkung geht nicht mit einer Anoxie einher. Sie schützt sogar die Zelle gegen eine Anoxie, wie die experimentellen Arbeiten von JAULMES u. a. am hämorrhagischen und traumatischen Schock und an der Blausäurevergiftung beim Hund nachgewiesen haben.

Die Narkose wird also erleichtert. Als ich in meiner Eigenschaft als Chirurg 1949 diese Technik empfahl, dachte ich in erster Linie an einen organischen Schutz gegen eine chirurgische Belastung.

Was wir oben über die postaggressorischen vasomotorischen Reaktionen und ihre Unterdrückung durch synergistisch wirkende Medikamente gesagt haben, ermöglicht das Verständnis dafür, weshalb die Methode, die wir „potenzierte Narkose“ genannt haben, dieses doppelte Ziel zu erreichen ermöglicht.

Die Methode ermöglicht sogar noch ein drittes Ziel, die *kontrollierte Hypotonie*. Bekanntlich ist diese Technik 1951 von ENDERLY zur Durchführung unblutiger chirurgischer Eingriffe vorgeschlagen worden. Die englischen Forscher verwendeten zu diesem Zwecke Methoniumderivate, also Mittel mit ausschließlich peripherer Ganglienwirkung und lagerten außerdem das Operationsgebiet hoch. Die potenzierte Narkose, wie wir sie seit Jahren mit Hilfe von Präparaten mit ganglioplegischer Wirkung durchführen, braucht zur Durchführung unblutiger Eingriffe nur durch Hochlagerung des Operationsgebietes ergänzt zu werden. Immerhin ist die kontrollierte Hypotonie nicht ganz ungefährlich, weil sie, wie wir gesehen haben, durch Überfüllung des Capillarsystems nach Öffnung der präcapillären Sphincteren zustande kommt. Bei einer Neuroplegie, wie wir sie verstehen, wobei die Sphincteren wahrscheinlich durch die Antihistaminica geschlossen bleiben, wird eine ausgesprochene Hypotonie auch mit Hochlagerung des Operationsgebietes wahrscheinlich schwerer erzielt. Aus diesem Grunde ist die Operation nicht so unblutig, dafür sind aber auch die bei alleiniger Anwendung von Methonium-Präparaten häufig auftretenden Anoxiefolgen bei Neuroplegie unmöglich. Dieser Sicherheitsfaktor spricht für die Blockade des vegetativen Nervensystems.

Pharmakodynamische Hibernisation.

Es ist jetzt auch leichter verständlich, warum die Kälte bei dieser Technik nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Die Kälte darf erst sekundär zur Anwendung kommen, denn die homöostatischen, vor allem die vasomotorischen Reaktionen müssen blockiert sein, bevor man den Patienten aktiv unterkühlen darf.

Die Kälte spielt außerdem eine untergeordnete Rolle, weil bereits durch die Hemmung des vegetativen Nervensystems ein gewisser Hypometabolismus erzielt wird, so daß die Stoffwechselreduktion durch diese physikalische Maßnahme, wie sie die Kälte darstellt, nur von sekundärer Bedeutung ist. Die Hypothermie muß von innen her durch Verminderung der Wärmebildung und nur in geringerem Maße von außen her durch Steigerung der Wärmeabgabe erzielt werden. Die Unterkühlung hat also in erster Linie nur eine lokale Rolle zu spielen. Nur in bestimmten Fällen

so z. B. bei der Herzchirurgie bei blutleerem Herzen, kommt der Unterkühlung eine größere Bedeutung zu, weil mit der Wirkung der Medikamente allein nicht der erforderliche Hypothermiegrad erreicht werden kann. In diesem Falle ist tatsächlich eine tiefe Hypothermie erforderlich, um eine langdauernde Abklemmung und einen längeren Kreislaufstillstand ohne irreversible Schädigung der Nervenzentren zu ermöglichen.

In unseren Veröffentlichungen der letzten 2 Jahre sind die theoretischen Grundlagen, die Technik und die Indikationen der Methode im wesentlichen niedergelegt.

Die Probleme, von denen wir heute sprechen möchten, haben sich vor einigen Monaten ergeben, als wir eingehende biologische Untersuchungen an hibernisierten Patienten vornahmen. Gewisse Versager der Methode gaben Veranlassung, uns näher mit dem endokrinen Faktor der organischen Reaktionen zu beschäftigen, um dann daraus gewisse Rückschlüsse für die Winterschlaftherapie ziehen zu können.

Die Ruhigstellung des vegetativen Nervensystems durch Pharmaka — experimentell nachgewiesen durch LABORIT, BOBBIO u. a., BENELLI u. a. — ist mit einer gleichzeitigen Drosselung der endokrinen Funktion (im Sinne einer Hypofunktion) verbunden.

Die Phenothiazinderivate (4560 R. P. und andere) führen zu einer Herabsetzung des Zellstoffwechsels (HALPERN u. a., PH. DECOURT), besonders deutlich im Hirngewebe (COURVOISIER u. a., PERUZZO). Wir haben schon hervorgehoben, daß der Hirnstoffwechsel vor allem ein Kohlenhydratstoffwechsel ist. Diese Tatsache spricht also für die Hypothese der Kohlenhydratstoffwechselhemmung — d. h. der Organismus ist nicht in der Lage, die Kohlenhydrate auszunutzen.

Tatsächlich läßt sich beim künstlich hibernisierten Tier eine deutliche Störung der Blutzuckerregulation feststellen. Die pharmakodynamische Blockade der adrenergischen Reaktion erkennt man an dem fast vollständigen Ausbleiben einer Hypertonie-Reaktion auf die verschiedensten Aggressionen, z. B. auf eine Asphyxie. Es kann sich also nicht um eine auf Adrenalin zurückzuführende Glykogenolyse handeln.

Das gleiche gibt für den Einfluß der Nebennierenrindenhormone, bzw. der übergeordneten Hypophyse, auf den Ablauf des Kohlenhydratstoffwechsels, wie aus dem histologischen Befund der Nebennieren, aus der Aufrechterhaltung ihres Ascorbinsäuregehaltes (GEORGES) und dem begrenzten Eosinophilensturz nach einer Aggression hervorgeht. Es handelt sich also wahrscheinlich nicht um eine „Neo-Glucogenese“.

Diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die Hypoglykämie bei künstlich hibernisierten Tieren auf eine *Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels* zurückzuführen ist.

Hieraus erklärt sich, warum diese Tiere zur Unterhaltung ihrer Lebensfunktionen ihre Protein- und Fettreserven heranziehen müssen,

obwohl ihr Gesamtstoffwechsel weitgehend herabgesetzt ist. Die Herabsetzung des Atmungsquotienten scheint diese Auffassung zu bestätigen, wenn auch ein leichte Hypoxie infolge Atmungsdepression und eine Gasalkalose eine gewisse Rolle spielen. Das Phänomen ist ohne Zweifel komplexer Natur. Sein Hauptfaktor besteht aber unseres Erachtens in einer *Umstellung des Stoffwechsels*.

Eine Tatsache hat uns immer schon in Erstaunen gesetzt: das oft starke Abmagern der künstlich hibernisierten Tiere im Laufe von wenigen Tagen, selbst bei normaler, meist sogar verminderter Harnstoffbildung (BOBBIO). Auch bei zahlreichen Patienten im Winterschlaf, läßt sich ein Absinken des Blutharnstoffspiegels nachweisen.

Wir haben weiterhin im Anfang unserer Versuche gelegentlich Dekubitalgeschwüre am Kreuzbein beobachten können, die auf einen erheblichen Eiweiß-Abbau schließen ließen. Seit wir lipotrope Substanzen und Heparin verwenden und eine Blockade des cholinergischen Systems (kein Diparcol mehr) vermeiden, sind diese Erscheinungen nicht mehr aufgetreten.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß *die Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels die unbedingt erforderlichen Verbrennungsvorgänge auf den Eiweißstoffwechsel hin orientiert*, wenn auch die allgemeinen Stoffwechselvorgänge während der pharmakologischen Hibernisation, mithin auch der gesamte Katabolismus (Stoffabbau), verlangsamt sind.

Gewisse Tatsachen, die sich bei der Untersuchung echter Winterschläfer ergaben (FONTAINE), haben sofort unsere Aufmerksamkeit erregt. Es ist festgestellt worden, daß bei den Winterschläfern die endokrine Involution sich nicht auf das gesamte endokrine System erstreckt. Der Eiweiß-Aufbau (Anabolismus) bleibt erhalten (VENDRELY und KAYSER). Der endokrine Teil des Pankreas arbeitet sogar verstärkt, was mit dem bei diesen Tieren zu beobachtenden gesteigerten Vagustonus in Einklang zu bringen ist (CALABRO).

Die Tatsache, daß diese Tiere vorzugsweise die Fette ausnutzen, deren Ansammlung in der „Winterschlafdrüse“ ein Hauptteil des natürlichen Winterschlafes zu sein scheint, hat uns zu der Annahme geführt, daß das endokrine Gleichgewicht beim Winterschläfer im natürlichen Winterschlaf in weitgehendem Maße durch das *Somatotropin* der Hypophyse (S.T.H.) gesteuert wird. Verabreicht man den Tieren dieses Hormon, so wird ihr Atmungsquotient auf einen Wert herabgesetzt, der dem bei Marmeltieren im Winterschlaf gemessenen Wert nahekommt (0,6—0,7).

Man könnte sich nun fragen, ob der große Unterschied, der zwischen der pharmakologischen Hibernisation, wie wir sie bisher durchführten, und dem natürlichen Winterschlaf besteht, nicht zum großen Teil darin begründet liegt, daß bei ersterer die neuro-endokrinen Funktionen

insgesamt herabgesetzt sind. Beim natürlichen Winterschlaf dagegen ist nur *die* neuro-hormonale Tätigkeit, welche zu Energieabgabe führt, blockiert, während die Regulationsmechanismen, die den zur Erhaltung des Lebens erforderlichen Verbrauch an Körpersubstanz steuern, erhalten bleiben. Wenn dies der Fall ist, dann versteht man, warum nach unserer Methode eine tiefe experimentelle Hibernisation von langer Dauer undurchführbar ist. Der Verbrauch von Gewebsproteinen an Stelle von Kohlenhydraten gibt eine bündige Erklärung für das Abmagern und den Tod der Tiere.

Wenn auch unsere Tierversuche, die wir unter Leitung von Oberst-arzt JAULMES zusammen mit Frau RICHARD durchgeführt haben, noch zu neuen Datums sind, um endgültige Schlußfolgerungen daraus zu ziehen, läßt sich doch schon sagen, daß Tiere, die durch Injektionen von S.T.H. vorbehandelt wurden und Fett in Form von Fettsäuren (Vitamin F) erhalten, unter dem Einfluß der „lytischen Mischung“ einen viel rascheren Temperaturabfall aufweisen, als die nicht vorbehandelten Tiere. Bei ersteren kann die zentrale Temperatur viel tiefer gesenkt werden. Sie verhalten sich dann ohne Schädigung wie wechselwarme Tiere. Sie brauchen nicht wiederbelebt zu werden, kommen spontan zu einem Wärmegleichgewicht mit der Umgebungstemperatur und scheinen sich also dem physiologischen Zustand des wirklichen Winterschläfers zu nähern. Es wäre noch zu versuchen, nach dieser Methode einen Winterschläfer im Sommer in Hibernisation zu versetzen. Wir hatten hierzu bisher noch keine Gelegenheit. Man stellt aber mit Erstaunen an Ratten, die mehrere Tage lang S.T.H. erhalten haben, neben einer erheblichen Gewichtszunahme einen Somnolenzzustand fest. Man könnte hieraus auf eine Wirkung des Hormons auf die Rinden- und Zwischenhirn-Funktion schließen. Einzelne Patienten, die zunächst nur mit Hilfe von Barbituraten in Schlaf versetzt werden konnten, benötigten diese nicht mehr und konnten nachts gut schlafen, wenn wir ihnen S.T.H. verabreichten, am besten abends.

Das Problem der pharmakologischen Hibernisation hat sich also verlagert. Bisher haben wir uns darauf beschränkt, die gestörten Organ-Abwehrreaktionen, die zu einem unnötig hohen Energieverbrauch führten, zu hemmen. — Wie wir gesehen haben, läßt sich dieses erste Stadium nicht umgehen. — In diesem ersten Reaktionsstadium bei einer schweren Aggression hat die Unterdrückung der adreno-sympathischen Reaktion eine große Bedeutung. Sonst kommt es zu einem unkontrollierten Verbrauch von Kohlenhydraten, die aus dem Eiweiß-Abbau stammen.

Diese erste therapeutische Maßnahme reicht aber nicht aus, wenn die Aggression länger anhält. Hieraus erklärt sich auch, weshalb wir ausgezeichnete Erfolge bei der Überbrückung von akuten schweren

Belastungen hatten, daß aber die Methode enttäuschte, sobald die Aggression länger dauerte.

Einen ersten Fortschritt konnten wir mit der Anwendung lipotroper Substanzen bei pharmakologischer Hibernisation erzielen. Mit Ungeduld warteten wir auf die Herstellung eines wirksamen *somatotropen Extraktes*, der uns erst vor wenigen Monaten zur Verfügung gestellt wurde (Extrait somatotrope ЧОДЪ).

Wir haben damit zunächst biologische Untersuchungen am Menschen vorgenommen. Hierbei stellten wir eindeutig fest, daß dieser Extrakt den Aufbau körpereigener Eiweiße fördert, daß er eine leichte diabotogene Wirkung ausübt, daß er zu einer Retention von Mineralsalzen führt und starke diuretische Wirkung besitzt, von der DUCHESNE glaubt, daß sie in einem Zusammenhang mit einer Gefrierpunkterhöhung im Serum stehen könne.

In der allgemeinen Pathologie entspricht dieser Extrakt der wichtigsten therapeutischen Forderung, nämlich: Umkehr der Stickstoffbilanz, die im allgemeinen nach jeder Belastung von einer bestimmten Stärke negativ wird und oft auch negativ bleibt, ohne daß man hier wirksam eingreifen könnte.

Mit Hilfe des somatotropen Extraktes haben wir nun versucht, bei einem Organismus, dessen Lebensvorgänge durch pharmakologische Hibernisation verlangsamt sind, das Stoffwechselgeschehen im Sinne eines Eiweiß-Aufbaues und einer vorzugsweisen Ausnutzung der Fette zu lenken und somit das biologische Gleichgewicht der wirklichen Winterschläfer nachzuahmen.

Trotzdem bleiben noch viele Unterschiede bestehen. Die Winterschläfer bereiten sich auf den Winterschlaf vor, indem sie Reservefette mit besonderen biologischen Eigenschaften ansammeln (Winterschlafdrüse). Vielleicht wird einmal die chemische Industrie uns intravenös injizierbare Fettlösungen zur Verfügung stellen, womit wir dann unseren hibernisierten Patienten die unbedingt erforderlichen energetischen Substanzen zuführen können. Es ist ja bekannt, daß die Energiereserven in Form von Fetten beim Menschen 70000 Kalorien betragen können. Die Neuorientierung des Stoffwechsels durch Somatotropin läßt also dem hibernisierten Patienten einen weiten Spielraum, bevor er auf seine Gewebseiweißstoffe zurückgreifen muß. Ohne hier weiter auf die erzielten Resultate eingehen zu wollen, möchte ich immerhin feststellen, daß das Somatotropin die pharmakologische Hibernisation umgestaltet hat.

Wir geben am Abend vor der Operation 100 E. dieses Mittels und erleichtern dadurch die Einleitung der Hibernisation erheblich. Wir kommen mit geringeren Mengen der lytischen Mittel aus und können eine bemerkenswerte Stabilität der verschiedenen physiologischen Daten während der Operation beobachten.

Die gleiche Stabilität ist auch bei postoperativer Verabreichung des Hormons festzustellen. Es kommt zu einer starken Diurese, so daß wir mehr Traubenzuckerlösung zuführen mußten, als sonst üblich.

Allein durch die Anwendung dieses Mittels lassen sich die auffallenden neuro-vegetativen Störungen in Form von Hyperthermie vermeiden. Die Hibernisation läßt sich auch ohne große Schwierigkeiten länger beibehalten und braucht geringere Dosen lytischer Mittel.

Die Wundheilung verläuft schnell und glatt. Die Stickstoffbilanz bleibt oft auch unmittelbar nach schweren Eingriffen positiv.

Das sind die Hauptvorteile der Anwendung dieses Hormons.

Physiologisch-biologische Bedeutung der pharmakologischen Hibernisation.

Die physiologisch-biologischen Reaktionen (postaggressorische Reaktionen) haben wir schon oft beschrieben. Mit diesen Reaktionsschwankungen ist es unseres Erachtens dem befallenen Organismus möglich, sein homoeostatisches Gleichgewicht wiederzuerlangen. Wir haben nachgewiesen, daß eine Synergie zwischen bestimmten chemischen Mitteln, Substanzen und gewissen Hormonen, bestimmten Mineralien, Vitaminen und Fermenten besteht, daß die Wirkung dieses Systems durch ein System mit genau entgegengesetzter Wirkung ausgeglichen wird. Das letztgenannte System muß unbedingt in Gang gebracht werden, um das homoeostatische Gleichgewicht wieder herzustellen. Besteht in diesem biokatalytischen Schwankungen keine Harmonie, so kommt es zur Krankheit. Ist der Organismus nicht in der Lage, sein schwer geschädigtes Gleichgewicht wiederzuerlangen, so bedeutet das einen Schock und somit Lebensgefahr.

Das Leben ist ein dauerndes Werden, das durch das ständige Bestreben des Lebewesens gekennzeichnet ist, sein autonomes Gleichgewicht gegenüber der Umwelt zu sichern. Beim hochentwickelten, komplizierten Organismus bedingt diese Autonomie ein Voneinanderabhängigsein aller ihn bildenden Zellen. Es handelt sich hier um ein System, das auf Veränderungen des äußeren Milieus als Ganzes reagiert. „Hierauf ist die Einheit des Lebewesens begründet“ (CLAUDE BERNARD).

Unter diesen Biokatalysatoren mit synergischer Wirkung ist wohl dem einen oder anderen eine zu große Bedeutung für die sogenannte „Verteidigung“ des Organismus zugeschrieben worden. Wir kommen später noch einmal auf diese „Verteidigung“ zu sprechen. Diese überwerteten Systeme sind das sympathico-adrenergische System einerseits und des ACTH-Glucocorticoid-System andererseits.

Fällt der Blutdruck nach einer Aggression ab, so scheint das sympathico-adrenergische System die Situation dadurch zu retten, daß es den Blutdruck wieder erhöht und das Blutdruckgleichgewicht wieder herstellt. Dies ist aber eine trügerische Reaktion, denn wie wir oben

gesehen haben, ist sie im Endeffekt eher schädlich als nützlich, weil sie bei einer schweren Aggression zu peripherer Anoxie durch Vasokonstriktion führt. Nimmt man nun aber trotzdem an, daß es sich hierbei um eine Verteidigungsmaßnahme handelt, so muß man sich wenigstens darüber klar werden, was und wie verteidigt wird. Welche „Verteidigungs-Rolle“ spielen vor allem die Gluco-corticoide, deren Ausschüttung durch die Nebenniere eine Folgeerscheinung der Hypophysen-Reaktion ist?

Es ist bekannt, daß ihre Hauptaufgabe darin besteht, die Neoglucogenese (Glykogenaufbau vom Eiweiß-Abbau her) sicherzustellen. Man muß sich nun fragen, weshalb der Abbau der Proteine, die ja einen wichtigen Bestandteil der lebenden Zellen darstellen, und hier keine Reserven bilden, unsere „Verteidigung“ dadurch sicherzustellen kann, daß aus ihnen neue Kohlenhydrate entstehen können. Der Einfluß dieser Rindenhormon-Gruppe auf das Mesenchym dürfte nämlich nur sekundärer Art sein. — Die Antwort hierauf lautet: der einem Schock ausgesetzte Organismus verbraucht Kohlenhydrate in ungeordneter Weise. Diese Tatsache ist altbekannt. Wir erklären sie uns mit der Adrenalin-Vasokonstriktion, von der wir oben gesprochen haben. Sie führt tatsächlich zu einer Anoxie der Peripherie und zwingt somit das Gewebe, in anaerobem Zustand zu leben. Nun ist aber im anaeroben Zustand eine Neubildung von Glucose aus Milchsäure unmöglich. Hieraus erklärt sich die Acidose beim Schock und die Anreicherung von Brenztraubensäure und Milchsäure im Gewebe. Da für die gleiche Energieabgabe der Kohlenhydratverbrauch merklich gesteigert ist, kommt es zu Hypoglykämie.

Das freigesetzte Adrenalin mobilisiert natürlich das Glykogen der Leber, aber die Reserve ist bald verbraucht. Zur Aufrechterhaltung seiner Verbrennungsvorgänge im Gewebe muß nun der Organismus auf seine Eiweißkörper zurückgreifen, um hieraus neue Kohlenhydrate zu bilden. Diese Aufgabe wird von dem Hypophysen-Nebennieren-System übernommen.

Weshalb handelt es sich hier um eine Verteidigungsmaßnahme?

Man darf nicht vergessen, daß die Kohlenhydrate die wichtigsten Energiequellen für Muskel und Gehirn darstellen. Der Ablauf der Dinge ist etwa so: Der hochentwickelte Organismus versucht bei einer Belastung seine Autokinese, d. h. die Integrität seiner Selbständigkeit gegenüber der Umwelt, selbst auf Kosten eines Substanz-Verlustes aufrechtzuerhalten, weil diese Unabhängigkeit nur denkbar ist, wenn die funktionelle Integrität des ZNS und des motorischen, sogenannten „Relations-Systems“, gewährleistet ist. Schon vor langer Zeit hat CANNON darauf aufmerksam gemacht, daß die Adrenalin-Sympathicus-Reaktion Flucht oder Kampf vorbereitet. Man denke an die Katze, wenn sie sich plötzlich einem Hund gegenüber sieht.

Die pharmakologische Hibernisation fordert folgende Arbeitshypothese. Die oben beschriebenen biologischen Vorgänge — das Ergebnis unserer Entwicklung — sind gefährlich. Eine zeitweilige Unterwerfung unter die Bedingungen der Umgebung, durch Hemmung der Adrenalin-Sympathicus-Reaktion und Übergang zu verlangsamtem Leben, sind für die Erhaltung des Lebens günstiger.

Es ist klar, daß dieser Verbrauch an Energie nur von kurzer Dauer sein kann, zunächst einmal, weil die Anoxie zu einer Zellschädigung führt, dann aber auch, weil es notwendig ist, neue Eiweißkörper zu bilden. An Stelle des Eiweiß-Abbaues muß der Eiweiß-Aufbau treten.

Auf Grund des oben erwähnten schwankenden Gleichgewichtes muß der Organismus zu diesem Zwecke auf eine entgegengesetzte biokatalytische Gruppe zurückgreifen. Dem Adreno-sympathischen System tritt das cholinergische System, dem ACTH das Somatotropin gegenüber.

Tatsächlich ist dieses Hormon in allen Punkten der Antagonist des ACTH und der Gluco-corticoide. Man könnte es das Hormon des latenten Lebens nennen. Es regt ganz wesentlich den Eiweiß-Aufbau an. Es hemmt den Kohlenhydratverbrauch und greift auf die enorme Energiereserve zurück, die die Fette darstellen, um die Eiweißsynthese zu verwirklichen.

Dieses Hormon trägt also dazu bei, „die Konstanz der Lebensbedingungen im inneren Milieu“ wiederherzustellen, ausgehend von den aufeinanderfolgenden und einander entgegengesetzten „Stoffwechsel-Orientierungen“, die eine harmonische postaggressorische Reaktion charakterisieren.

Man kann also die einander entgegengesetzten Wirkungen von ACTH- und Somatotropin so deuten, daß sie aufeinanderfolgende und im umgekehrten Sinne wirkende Faktoren zur Wiedergewinnung des homoeostatischen Gleichgewichtes darstellen. In diesem Sinne sind sie beide „Verteidigungsmittel“, aber nur für unsere Homoeostase.

Ausgehend von dieser Auslegung, die zwar theoretischen Charakter trägt, die sich aber schon in gewisser praktischer Beziehung als richtig erwiesen hat, ausgehend ferner von den enttäuschenden Ergebnissen, die ACTH, Cortison und Adrenalin bei akuten Aggressions-Syndromen — wie nicht anders zu erwarten — gezeigt haben, kommt man zu einer Therapie, die die neurovegetative und endokrine Hemmung der Reaktionen zum Ziele hat. Der Erfolg dieser Therapie soll einzig und allein die Wahrung unserer Autonomie gegenüber der Umwelt, dem äußeren Milieu sein. Man wird uns entgegenhalten, daß das Theorien sind, aber „die Tatsachen an sich gelten nichts, sie erhalten ihren Wert erst durch die verbindende Idee“ (CLAUDE BERNARD). Tatsachen können wir, und nicht nur wir allein, in immer größerem Maße zum Beweis anführen. Die Einführung des Somatotropins in die allgemeine Therapie und in die Hibernisation wird weitere, nicht weniger überzeugende Tatsachen er-

geben, die wir nach der Verwendung dieses Präparates, die bei uns erst seit wenigen Monaten läuft, vorhersagen können. Es sind zweifellos Theorien, aber diese Theorien haben uns gewisse Therapiefehler, bezüglich der Verwendung von ACTH, Cortison, Sympathicomimetica usw., im Verlaufe postaggressorischer Syndrome vermeiden lassen. Das sind auch Tatsachen, denn derartige Fehler wären unvermeidlich, wenn man sich nur auf die Beobachtung eines einzelnen biologischen Faktors beschränken wollte, ohne ihn in dem Rahmen der allgemeinen Entwicklung einzubauen und seine wirkliche Ursache aufzuklären.

Abschließend wollen wir folgendes feststellen: Da unseres Erachtens das allgemeine therapeutische Verhalten gegenüber der Krankheit das Wesentliche ist, ist die alleinige Anwendung von Somatotropin in der allgemeinen Pathologie auf endokrinem Gebiet der isolierten Anwendung von 4560 R.P. auf pharmakodynamischem Gebiet anzugleichen.

Es kommt also darauf an, eine homöostatische Reaktion, die bekanntlich vom adreno-corticotropen Hypophysen-Hormon gesteuert wird, zu unterdrücken und nicht anzuregen.

Literatur.

BIZARD, G., P. PARIS, J. VANLERENBERGHE et G. MILBLED: Etude pharmacodynamique de quelques substances ganglioplégiques dérivées de l'ammonium quaternaire. *L'Echo Méd. du Nord* **10**, 362 (1952). — CHAMBERS, R., B. W. ZWEIFACH and B. E. LOWENSTEIN: Circulatory reaction of rats traumatized in Noble collip drum. *Amer. J. Physiol.* **139**, 123 (1943). — CRUMPTON, MURPHY, WITT-MORE, CAPPS and ORTH: *Amer. Soc. Pharm. a. Exper. Ther.* 1952, in *Fed. Proc.* **II**, (I), 1, 335 (1952). — DAVIS, H. A.: Shock. New York: Grune and Stratton 1949. — DUCUNG, J., et J. RIEUNAU-SERRA: Hypothermie contrôlée et hyperthyroïdie. *C. r. Acad. Chir.* **17**, 414 (1953). — FONTAINE, M.: De l'hibernation naturelle à l'hibernation expérimentelle *Rev. Path. comp. et Hyg. gén.* **644**, 53 (1953). — FORBES, H. S., and S. COBB: Vasomotor central of cerebral vessels. A Research new and Ment. Dis. *Proc.* 1937. Baltimore: Williams and Wilkins. **18**, 201 (1938). — GOSSET, J., J. P. LAMARE et D. LARGET: Prévention et traitement de la maladie postopératoire. Rapport au 15ème Congrès de l'Association Française de Chirurgie (Paris, 4—9 octobre 1948) in *J. de Chir.* **10—11**, 537 (1948). — JAULMES, C., A. C. BÉNITTE et H. LABORIT: Effets produits par l'injection intra-cisternale des certains agents pharmacodynamiques chez le chien normal et au cours du choc hémorragique. *Rev. Path. comp. et Hyg. gén.* **642**, 701 (1952). — JAULMES, C., H. LABORIT et A. C. BÉNITTE: Peut-on concevoir l'application de l'hibernation artificielle à la chirurgie de guerre? *Soc. Méd. Militaire* **10**, 196 (1951). — JAULMES, C., H. LABORIT, A. C. BÉNITTE et Mme. S. RICHARD: Prévention du choc hémorragique par l'hypothermie associée à la stabilisation neurovégétative. *Soc. Méd. Militaire* **2**, 28 (1952). — LABORIT, H.: La thérapeutique neuro-végétative du choc et de la maladie post traumatique. *Press. méd.* **9**, 139 (1950). — Sur le mécanisme d'action des méthoniums. *Semaine Hôp.* **38**, 643 (1952). — Rôle des capillaires dans la pathogénie de la maladie traumatique et du choc. *Gazette Méd. France*, numéro spécial 69 (1952). — Réaction organique à l'agression et choc. Paris: Masson & Cie. 1952. — Aspect neuro-biologique de quelques grands

syndromes chirurgicaux. Press. méd. 20, 404 (1953). — LABORIT, H., A. FAVRE, G. DUCHESNE, J. DECHEN et G. BASTIT: Essai d'utilisation d'une somatotrophine hypophysaire en pathologie générale. Press. méd. 53, 1085 (1953). — LENNOX, W. G., F. A. GIBBS and E. L. GIBBS: Relationship in man of cerebral activity to blood flow and blood constituents. A. Research New and Ment. Dis. Proc. Baltimore: Williams and Wilkins 1937. 18, 277 (1938). — LERICHE, R.: Physiologie pathologique et chirurgie des artères. Paris: Masson & Cie. 1943.

Diskussion zum Hauptthema I.

Zur Diskussion aufgefordert:

F. H. Koss (Düsseldorf): Vor- und Nachteile der potenzierten Narkose und des künstlichen Winterschlafs in der Klinik. Ich habe zunächst zweimal meinen Dank abzustatten. Dem Herrn Präsidenten danke ich für die Aufforderung, die Diskussion hier einzuleiten. Weiter bin ich den Herren JAULMES, LABORIT und HUGENARD zu größtem Dank verpflichtet, die vor gut einem Jahr Herrn IRMER und mich in die Theorie und Technik der potenzierten Narkose und des künstlichen Winterschlafs einführten. Wir sahen so viele Vorteile gegenüber den bisherigen Narkosemethoden, daß wir gleich mit der potenzierten Narkose in unserer Düsseldorfer Klinik begannen.

Nichts kann, glaube ich, besser die Vorteile dieser Methode beweisen, als die Ergebnisse unserer Mitralklappenoperationen vor Einführung der potenzierten Narkose und jetzt. Von 30 Operationen ohne potenzierte Narkose verloren wir 7 Patienten, davon sind 2 Todesfälle durch die Operationstechnik bedingt, die wir heute mit der größeren Erfahrung nicht mehr verlieren würden. Bei im wesentlichen gleichbleibender Technik haben wir 55 Patienten in potenziertem Narkose mit nur 1 Todesfall operiert. Hierbei handelte es sich fast ausnahmslos um schwerste Formen der Mitralklappenstenose des Stadiums 4 und 5. Eine gleichzeitige Aortenklappenstenose, bei der wir nicht den Mut hatten, in derselben Sitzung ebenfalls anzugehen, war die Todesursache bei dem einzigen Verlust in der 2. Gruppe.

Die Vorteile der potenzierten Narkose, auf die wir unsere Erfolge in der Herz- und Lungenchirurgie zurückführen, sind vor allem die stabilen Kreislaufverhältnisse und die Vermeidung des Lungenödems sowie die Reduktion des Stoffwechsels. Herzunregelmäßigkeiten, wie arterio-ventrikuläre Dissoziation, Extrasystolen und Tachykardien lassen sich zwar nicht vermeiden, die Herzleistung wurde dadurch aber nicht wesentlich beeinflusst. Herzflimmern ist dagegen unter der potenzierten Narkose auch bei Herzeingriffen nie aufgetreten. Nach der Erkenntnis, daß eine kurzdauernde schwere Aggression gut vertragen wird, konnte der Eingriff im Herzen selbst ausgiebiger vorgenommen werden. Dadurch kamen die Patienten der 2. Gruppe in den Genuß einer sorgfältigeren Sprengung, weil der Operateur unter der potenzierten Narkose gefahrlos Zeit hat, den Klappenbefund intrakardial zu kontrollieren und Korrekturen vorzunehmen. In der 1. Gruppe mußte die Operation wegen der bedrohlichen Kreislaufverhältnisse nach einem einmaligen intrakardialen Eingriff schnell beendet werden.

Viele von Ihnen werden wohl bei der Einführung der potenzierten Narkose gedacht haben, daß die Vielzahl von verwendeten Medikamenten die Gefahren einer Narkose erhöht. Es gilt die Faustregel, daß je größer die Zahl der verwandten Mittel und je komplizierter der Aufwand, desto größer die Zahl der Zwischenfälle sein muß. Nicht umsonst hat die Äthertropfnarkose bis heute ihre unbestrittene Bedeutung behalten. Die oben geäußerten Bedenken gelten aber für die potenzierte Narkose

nur bedingt. Sie hat viele Vorzüge, die die Narkose und die Operation wesentlich erleichtern.

So ist schon nach der Prämedikation mit Atosil, Megaphen und Dolantin der Patient viel ruhiger als sonst. Er ist desinteressiert an der Umgebung. Die ungewohnte Atmosphäre des Operationsvorbereitungsraumes und die Manipulation vor der Operation werden psychisch gleichgültig hingenommen. Allein gelassen, schläft der Patient ein. Auf Anruf wird er jedoch wach und kommt allen Anforderungen nach. Die Atmung ist jetzt vertieft, verlangsamt und regelmäßig, während nach Morphinumvorbereitung uns die zentrale Atemdepression immer Sorgen bereitet. Die vertiefte und verlangsamte Spontanatmung bleibt auch dann erhalten, wenn in der 1. Std der Operation etwa 10—15 mg d-Tubocurarinchlorid gegeben werden. Hier ändert sich unser alter Standpunkt, daß das Curare nur gegeben werden darf, wenn intubiert wird. Jetzt ist es dem Erfahrenen durchaus möglich, ohne Intubation bei Bauch- und Extremitäteneingriffen in der oben angegebenen Dosis Curare anzuwenden. Nach Barbiturat-Succinyleinleitung ist der Übergang zu Curare in der potenzierten Narkose in üblicher Weise möglich.

Die bronchialsekretionshemmende Wirkung der Phenothiazine erlaubt eine gefahrlosere Anwendung des Äthers zur Narkose. Postoperative Komplikationen, wie Atelektasen der Lunge und Pneumien werden heute nur noch selten beobachtet.

Ob die ödemverhindernde Eigenschaft der Phenothiazinderivate auf einer gefäßabdichtenden Wirkung beruht, ist noch nicht geklärt. Sie erlaubt uns aber mit geringerem Risiko als sonst, Gehirn-, Lungen- und Herzoperationen durchzuführen. Auf diese Eigenschaft führe ich auch zurück, daß das Glottisödem nach Intubation im Kleinstkindesalter und bei Kehlkopftuberkulose nicht mehr auftritt. Ergußbildungen nach Thoraxoperationen sind verringert, so daß die Pleura seltener als früher punktiert werden muß.

Die Senkung des Sauerstoffverbrauchs läßt hypoxämische Zustände verschiedener Ursachen besser überstehen als früher. Der Narkosemittelverbrauch ist reduziert.

In der Nachbehandlung wird mit Hilfe der Phenothiazin-Dolantinkombination ein somnulanter Zustand mit retrograder Amnesie für die sonst so schweren Tage nach der Operation erreicht. Der Verbrauch von Opiaten ist erheblich eingeschränkt; die vertiefte, verlangsamte, regelmäßige Atmung hält an.

Nach eigenen Beobachtungen ist die lytische Kombination M 1 auch zur Bekämpfung des kompensierten und manifesten Schocks sehr geeignet. Langsame fraktionierte, intravenöse oder besser wegen der langsameren Resorption intramuskuläre Injektionen erweitern im kompensierten Schock die peripheren Gefäße. Gleichzeitige Bluttransfusionen, die mit der Gefäßerweiterung Schritt halten müssen, sind dabei erforderlich. Eine zu langsame Infusion würde zu paralytischem Kollaps, eine zu schnelle zum Kreislaufversagen führen. Auch im paralytischen Kollaps scheinen nach LABORIT die Phenothiazine die Gefäße nicht noch mehr erweitern zu können, sondern sie in ein intermediäres Gleichgewicht zu bringen.

Eingeschränkt haben wir die Indikation zur Unterkühlung des Patienten mit Eisblasen. Hierbei bestehen die eingangs erwähnten Bedenken zu Recht. Selbst kleinere Schwankungen in der Tiefe der vegetativen Blockade, die dann nicht mehr mit dem Grad der Unterkühlung im Einklang steht, führt zur adrenergischen Abwehr des Patienten. Sie äußert sich in Zeichen des Frierens, wie Gänsehaut und Zittern. Die vegetative Blockade muß dann sofort verstärkt werden, da sonst der Nutzen durch erhöhten Sauerstoffverbrauch und vasopressorischer Gegenregulation mit verstärkter Beanspruchung des Herzens verloren geht. Hier kann die kontrollierte Hypothermie zur Gefahr werden. Auch die geringste Cyanose muß sofort bemerkt und beseitigt werden. Die Pflege dieser Patienten kann nicht mehr dem

Personal überlassen werden. Dadurch ist alleine schon die Anwendungsmöglichkeit sehr beschränkt. Hierbei erscheint uns die vegetative Blockade an den Tagen, an denen sie mit Magnesiumsulfat und Sparteinsulfat durchgeführt wird, nicht ausreichend zu sein. Die von LABORIT erwähnte Anwendung des Somatotropins dürfte ein weiterer Fortschritt in der Anwendungsmöglichkeit des künstlichen Winterschlafs sein.

Interessant für mich ist auch die Feststellung BENITES über die depressorische Wirkung des Procainamids auf das Hundeherz. Wir haben beim Menschen denselben Eindruck gewonnen und die Procainamid-Dosierung auf 25 mg und in letzter Zeit überhaupt nicht mehr angewandt.

Meine Damen und Herren!

Viele Fortschritte sind erzielt worden. In der Praxis hat sich die potenzierte Narkose bewährt, ohne daß die Wirkung der einzelnen Medikamente schon experimentell fest untermauert wäre. Nach unserer klinischen Erfahrung an über 1000 potenzierten Narkosen ist der wesentlichste, faßbare Vorteil die starke Dämpfung der Abwehrreaktionen von Kreislauf und Stoffwechsel vor, während und nach der Operation.

Nichts kann die Situation besser beleuchten, als das eben gesprochene Wort des Referenten, daß die noch zu lösenden Probleme dem Inhaltsverzeichnis eines Pharmakologiehandbuches gleichen.

Die Vielzahl der verwandten Mittel, die alle niedrig dosiert werden, erschweren die Forschung. Bisher ist aber nach der Erfahrung der Praxis eine wirksame vegetative Blockade nicht anders möglich. Wir Chirurgen fordern für die Zukunft eine Narkose für intrakardiale Operationen am aufgeschnittenen Herzen von 20 bis 30 min Dauer. Ich glaube, daß neue Forschungen auf dem Gebiete der potenzierten Narkose und der künstlichen, pharmakologischen Hibernation diesen Eingriff in absehbarer Zeit ermöglichen. Die Arbeit daran erfordert alle verfügbaren Kräfte.

Daran mitzuarbeiten, möchte ich Sie herzlich bitten.

K. DIETMANN (Bonn): Wenn wir als Chirurgen und Anaesthesisten so hochwirksame Pharmaka, wie beispielsweise Phenothiazine anwenden, dann wollen wir, besser, dann *müssen* wir ihre Wirkungen exakt kennen. Bekannt ist die hohe Kreislaufwirksamkeit der Phenothiazine, jedoch liegen keine näheren Untersuchungen über ihre Wirkungen auf die Herzleistung und Kreislaufdynamik beim Menschen vor. Aus diesem Grunde haben wir bei 20 kreislaufgesunden Versuchspersonen den Effekt von 50 mg Megaphen — einer gebräuchlichen Dosis — auf Herz- und Kreislauf untersucht. Die physikalischen Werte für die einzelnen Kreislauffaktoren gewannen wir nach den Grundlagen von BRÖMSER, RANKE u. WEZLER, BÖGER. Die Pulskurven wurden mit einem mehrfachen Direktschreiber dargestellt. Der relative Wert der Ergebnisse und Berechnungen ist uns bewußt. Wesentlich für unsere Schlußfolgerungen sind die Richtungsänderungen der gemessenen Größen, die sich (nach WEZLER und BIERHAUS) hinreichend genau bestimmen lassen.

Wir haben am liegenden Patienten gleichmäßig innerhalb von 5 min 50 mg Megaphen intravenös injiziert und den Verlauf der Veränderungen über 2 Std verfolgt. Dabei konnten wir fast gesetzmäßig einige bemerkenswerte Reaktionen ermitteln.

Sie sehen hier einen typischen Kurvenverlauf (Abb. 1). Neben dem bereits bekannten Blutdruckabfall und einer vorübergehenden Frequenzerhöhung fällt der Anstieg des peripheren Widerstandes und der Abfall des Herzschlag- bzw. Minutenvolumens auf. Oberflächlich betrachtet, könnte man die Minderung des Schlagvolumens, d. h. der Herzleistung begrüßen, da sie ja gewissermaßen einen

„Schongang“ des Herzens bedeutet. Indessen kommt es ja auf den „Nutzeffekt“ des Herzmuskels an, wenn wir einen wirklichen Maßstab für die Ökonomie der Herzmuskelarbeit anlegen wollen. Energetische Messungen am menschlichen Herzmuskel sind zur Zeit in der Klinik noch nicht möglich.

Die Veränderungen des Herzschlagvolumens sind nicht allein durch periphere Kreislauffaktoren bedingt. Orientierende Messungen sowie Berichte in Schrifttum geben keinen Hinweis auf eine Minderung des Venendruckes, d. h. auf ein Minder-

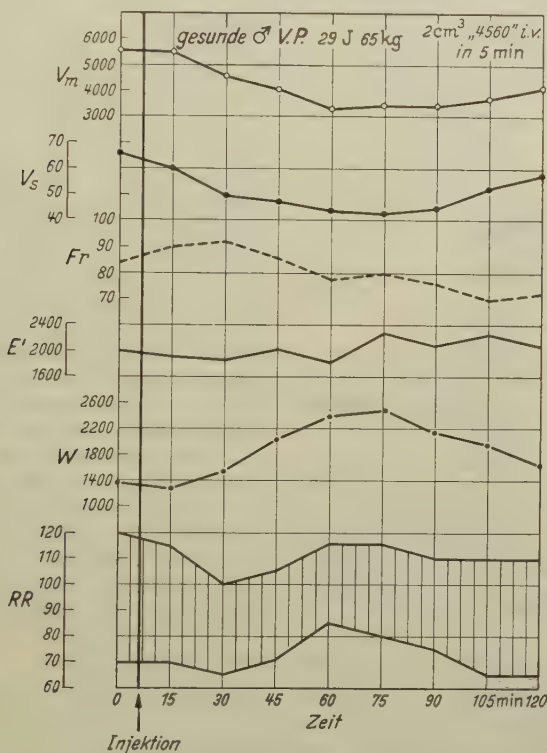


Abb. 1. Kreislaufanalyse nach Injektion von 50 mg „Megaphen“ (R.P. 4560) i. v.

angebot von Blut an das rechte Herz. Die Schlagvolumensenkung — etwa 90 min nach Injektion von Megaphen anhaltend — ist zum wesentlichsten Teil eine echte dämpfende Wirkung des Pharmakons auf das Herz. Gerade haben KREPPPEL u. ZIPF in noch unveröffentlichten orientierenden Versuchen den experimentellen Beweis für die Dämpfung nervöser Herzreize erbracht. Das Megaphen verhält sich hier ähnlich wie ein i.v. injiziertes Lokalanästhetikum.

Für den peripheren Kreislauf bedeutungsvoll ist der synchrone Anstieg von peripherem Widerstand und diastolischem Blutdruck.

Im Durchschnitt finden wir einen Anstieg des peripheren Widerstandes um 82% und des diastolischen Druckes um 21%. Gleiches beobachten wir beim sogenannten Spannungskollaps. Wir dürfen nun nicht so weit gehen, diese Richtungsänderung dem „Spannungskollaps“ gleichzusetzen. Wir müssen aber feststellen,

daß wesentliche Faktoren des peripheren Kreislaufes vorübergehend ungünstig beeinflusst werden. Dürfen wir nun bei einer ungünstigen Ausgangslage der physikalischen Kreislaufgrößen ohne Überlegung Megaphen verabreichen? Vorsichtig formuliert müssen wir sowohl nach unseren klinischen Erfahrungen wie auch besonders nach den vorliegenden Untersuchungen feststellen, daß Megaphen intravenös für den Kranken, besonders den Kreislaufgefährdeten oder gar beim klinisch manifesten Schock keineswegs gleichgültig ist. Praktisch verabreichen wir Megaphen nur prolongiert im Dauertropf oder subcutan mit Hyaluronidase.

Herr LABORIT hat heute morgen von einem somatotropen Extrakt des Hypophysenvorderlappens berichtet und dessen Stoffwechselwirkung dargestellt. Es ist zweifellos der dissimilativ-ergotrope Sympathicotonus, der nach einer Aggression unter bestimmten ungünstigen Voraussetzungen zu einer Überspannung lebenswichtiger Organsysteme, zur Erschöpfung und schließlich zu einem Abgleiten in die autonom-endokrine Dissoziation führt. Von HOFF und PELTZER u. a. wurde schon vor Jahren gefordert, durch den Einsatz der assimilativ-somatotropen Funktionseinheit des Parasympathicus dieser bedrohlichen Entwicklung zu begegnen. Offenbar löst nun das Hypophysenvorderlappenhormon „Somatotropin“ nach LABORIT vorwiegend assimilatorische Leistungen aus. Mit dem gleichen Ziel haben wir bereits vor einem Jahr vorgeschlagen: eine Alkalisierung; Zufuhr von Kalium; Zufuhr der Vitamine D, C, B₁ und B₂ und gleichzeitig mit Glucose Zufuhr von Corticosteron und Insulin.

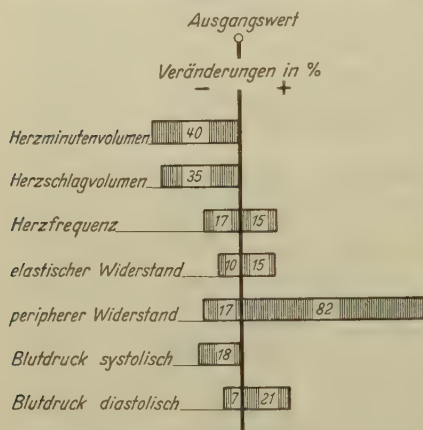


Abb. 2. Prozentuale Veränderungen der physikalischen Kreislaufgrößen im Verlauf von 2 Stunden nach i. v. Injektion von 50 mg „Megaphen“. Durchschnittswerte bei 20 Messungen.

Wir erreichen so nach HOFF, GROSSE-BROCKHOFF, PELTZER u. a.:

1. einen zellspezifischen Ein- und Aufbau von Eiweißen und Fettsäuren;
2. ein positive Stickstoffbilanz;
3. eine Auffüllung der Muskel- und Leberglucosereserven.

Das sind die gleichen Wirkungen, die nach LABORIT das Somatotropin auslöst.

Die Methodik der künstlichen Hypothermie ist kompliziert und erfordert einen großen Aufwand an Zeit und Personal. Herr Koss hat Ihnen davon bereits einiges berichtet.

Ich habe die Methodik insofern erweitert, als ich den Stoffwechsel des Kranken bereits 3—4 Tage vor der Operation senke und zwar vorwiegend durch die eben erwähnten Maßnahmen, d. h. humoral-hormonell. Sie sehen auf diesem Narkoseprotokoll die mehrtägige Vorbereitung, die bereits zu einer erheblichen Grundumsatzsenkung geführt hat. Es handelte sich um einen Kranken, der bereits mehrfach vergeblich wegen einer Carotis-Aneurysma im Hypothalamusgebiet operiert wurde. Schwerste Erregungszustände, katastrophale Puls- und Blutdruckreaktionen sowie Blutungsgefahr hatten eine erfolgreiche Operation bisher verhindert. Es gelang bei gesenktem Blutdruck, bei Stabilisation von Puls, bei erniedrigtem Grundumsatz und erniedrigter Temperatur diesen Kranken erfolgreich zu operieren.

Meine Damen und Herren! Gestatten Sie mir als Arzt und Chirurg einen Hinweis von grundsätzlicher Bedeutung zu den hier diskutierten Forschungsergebnissen. Sie geben uns hochwirksame Drogen und Pharmaka in die Hand, deren Anwendung uns an die Grenze der ärztlichen Verantwortung führt. Diese Mittel und Maßnahmen führen zu tiefgreifenden Veränderungen der Autonomie menschlichen Lebens, zur Unterkühlung ja zur pharmakologischen Lobotomie. Wir verfügen heute bereits über ein gewisses Maß eigener Erfahrungen mit der Anwendung von Ganglienhemmstoffen bei den oben angeführten Indikationen. Einer statistischen Auswertung billigen wir aber erst ein Recht zu, überzeugend zu sein, wenn wir eine genügend große Zahl jeder einzelnen Anwendungsart und Technik vorweisen können. Als Fazit dürfen wir aber heute bereits feststellen, daß die erleichterte Narkose, d. h. die präoperative vegetative und zentrale Ruhigstellung mit Ganglienhemmstoffen und die Ausschaltung unerwünschter zentraler und vegetativer Unruhezustände und Erregungen einen erfreulichen und nicht anfechtbaren Fortschritt darstellen. Warnen möchte ich aber vor einer kritiklosen Anwendung der potenzierten Narkose, besonders der kontrollierten Hypothermie. Trotz zahlreicher französischer Veröffentlichungen und emphatischer Berichte raten wir zur strengsten Indikationsstellung. Es verbietet sich von selbst, daß die potenzierte Narkose oder auch die kontrollierte Hypothermie angewandt wird, wenn bewährte Anaesthesieverfahren bei gleichem Risiko zu gleichem Ziel führen.

F. GROSSE-BROCKHOFF (Bonn): Wenn die Fülle theoretischer Erörterungen so groß ist wie am heutigen Morgen, so bleibt für den Diskussionsredner nur die Möglichkeit, einige besondere Gesichtspunkte herauszugreifen, die ihm problematisch bzw. ergänzungsbedürftig erscheinen.

1. Als erstes nehme ich zu dem Begriff des Hypometabolismus in Zusammenhang mit der Verabfolgung von neuartigen Mitteln zur Dämpfung von Stoffwechsel und Nervensystem Stellung. Herr LABORIT vertritt die Ansicht, daß durch Megaphen oder die anderen aufgeführten Substanzen der Gesamtstoffwechsel erniedrigt wird, ohne daß eine Herabsetzung der Körpertemperatur von „außen“ her stattfinden braucht. Er spricht von einer „Histoplegie“ durch die genannten Pharmaka. Wenn dem so wäre, so müßte der Sauerstoffverbrauch nach solchen Substanzen meßbar absinken, ohne daß sich die Körpertemperatur zu ändern brauchte. Wenn Herr BENITTE noch berichtet, daß aus neueren Versuchen wahrscheinlich geschlossen werden darf, daß auch die Schilddrüse ruhiggestellt wird, und wenn hieran das Megaphen tatsächlich unmittelbar ohne den Umweg über die Hypothermie beteiligt wäre, so müßten wir erst recht eine Senkung des Energieumsatzes bei Überfunktionszuständen der Schilddrüse nach Megaphen finden. Dieser Frage gingen wir in gemeinsamen Versuchen mit v. EIFF an der Martinischen Klinik nach. Das Ergebnis verlief völlig negativ. Wir haben zunächst Normale und Patienten mit Schilddrüsenüberfunktion mit Infusionen von Megaphen behandelt und den Sauerstoffverbrauch mehrfach vor- und nachher gemessen. Die Bestimmung wurde mit der Apparatur von HARTMANN u. BRAUN durchgeführt, wobei das Atemminuten-Volumen sowie die O_2 - und CO_2 -Konzentration der Ausatemungsluft gemessen wurden. Eine Senkung des O_2 -Verbrauches wurde nicht festgestellt. Wir haben sodann die Patienten über längere Zeiten mit peroraler Megaphen-Medikation behandelt, wobei eine entsprechende Vor- und Nachbeobachtungsperiode eingeschaltet war. Das Vorgehen und das Ergebnis demonstriert die Abb. 1. 5 weitere Versuche in gleicher Anordnung hatten dasselbe negative Ergebnis. Dabei ist noch zu bemerken, daß die Ruhe-Aktionsströme der Muskulatur als Ausdruck des reflektorischen Muskeltonus mit aufgezeichnet wurden, ohne daß von einer Dämpfung bzw. einem Nachlassen des Muskeltonus nach Megaphen die Rede sein kann.

Über nähere Einzelheiten dieser Versuche wird v. EIFF berichten. — Ich möchte daher an die Herren Referenten die Frage stellen, ob sie über Beobachtungen verfügen, die beweisen, daß der Energiestoffwechsel des Organismus nach Megaphen tatsächlich absinkt, ohne daß gleichzeitig die Körpertemperatur erniedrigt ist. Die Kurven, die ich heute sah, zeigten, daß die O_2 -Erniedrigung auch gleichzeitig mit einem Absinken der Körpertemperatur Hand in Hand ging.

Es heißt, daß der Stoffwechsel des Nervengewebes durch Megaphen eingeschränkt wird. Dies könnte bedeuten, daß solche Erniedrigungen bei der Messung des Gesamtumsatzes nicht zum Ausdruck kommen. Daß man an Gehirnschnitten eine

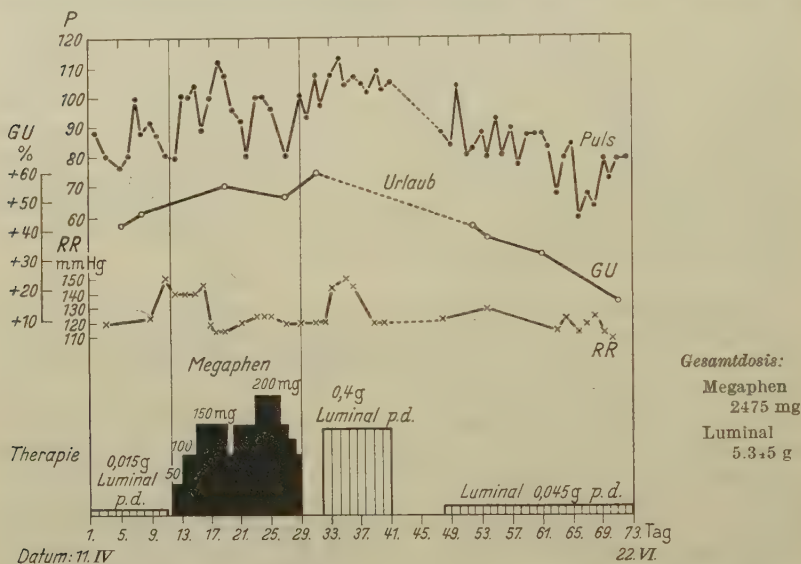


Abb. 1. Pat G. D. ♀, 30 Jahre. Klin. Diagnose: Morbus Basedow. Die Kurven zeigen an von oben nach unten: Puls, Grundumsatz, systol. Blutdruck. Unter Megaphenbehandlung keine deutliche Änderung des Grundumsatzes.

Senkung des O_2 -Verbrauches nach den besagten Pharmaka beobachten konnte, besagt noch nicht, daß es auch bei therapeutischer Anwendung in den Gehirnzellen zu einer Umsatzsenkung kommt, wenn nicht gleichzeitig die Gehirntemperatur erniedrigt wird. Man darf nicht vergessen, daß nach der RGT-Regel ein Absinken der Kerntemperatur um $1^\circ C$ bereits eine Erniedrigung des O_2 -Verbrauches von 10–20% nach sich zieht. Wenn es aber wirklich so ist, daß diese Substanzen in der üblichen Dosierung den Stoffwechsel der Ganglienzellen einschränken, so müssen wir uns ernsthaft fragen, ob dieser Hypometabolismus im Sinne einer Kohlenhydratstoffwechselhemmung, wie LABORIT sie auffaßt, tatsächlich etwas Gutes bedeutet. Herr LABORIT spricht selbst davon, daß Herabsetzungen der neurovegetativen Funktionen durch solche Pharmaka auf längere Dauer nicht durchführbar seien, da der Verbrauch der Gewebsproteine infolge Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels eine bündige Erklärung für das Abmagern und den Tod der Tiere abgebe. Hier müssen noch Untersuchungen angestellt werden, die uns über die prinzipiell so wichtige Frage aufklären, bei welchen Dosierungen diese Pharmaka in die Stoffwechselvorgänge der Zelle eingreifen, und wann der Energieumsatz der Zelle erniedrigt wird. Es ist für uns sehr schwer vorstellbar, daß Pharmaka den

Stoffwechsel der ruhenden Zelle senken können, ohne daß damit notwendigerweise die Gefahr einer Schädigung der Zelle eintritt.

2. Wenn die Möglichkeit besteht, die Temperaturregulation durch Megaphen so zu blockieren, daß die starken Frierreaktionen bei äußerer Kälteeinwirkung verhindert werden können, so stellt dies einen beachtlichen Fortschritt gegenüber den Versuchen dar, wie sie um 1940 von amerikanischer Seite zur Therapie der Schizophrenie bzw. des Carcinoms gemacht wurden. Heute stehen wir, wie wir schon gehört haben, vor der praktisch ungemein wichtigen Entscheidung, in welchen Bereichen die künstliche Hypothermie in der Chirurgie Anwendung finden kann und finden muß. — Zu den diesbezüglichen Ausführungen von Herrn BENITTE möchte ich noch einige Bemerkungen anknüpfen: Wenn wir die temperaturregulierenden Zentren nicht blockieren, so haben wir bis etwa 33° C mit einer intensiven Abwehrregulation vor allem in Form des Kältezitterns zu rechnen. Von da ab beginnt die Kältelähmung, die schließlich abwärts 26° sich mehr und mehr dem Zustand des Scheintodes nähert. Wenn wir also durch Pharmaka, die die Temperaturregulation blockieren, die Abwehrreaktionen in der ersten Phase der Unterkühlung verhindern, so können wir noch bis etwa 33—34° Körpertemperatur damit rechnen, daß die regulativen Funktionsgebiete als solche durch die Kälte noch keine Einbuße erfahren haben. Der Vorteil würde darin bestehen, daß durch eine Temperaturniedrigung diesen Ausmaßes der Sauerstoffverbrauch entsprechend der RGT-Regel um etwa 40—50% unter die Norm gesenkt würde, vorausgesetzt, daß keinerlei Kältezittern mehr zustandekommt. Inwieweit dies der Fall ist, vermag ich allerdings selbst nicht zu beurteilen. Eine solche Erniedrigung des Energiestoffwechsels würde bereits eine beachtliche Einsparung an Kreislaufarbeit bedeuten. Es liegt daher auf der Hand, daß Schockzustände — besonders bei Blutverlusten — oder auch Vergiftungszustände leichter überwunden würden. Inwieweit hier Vorteile und Nachteile eines solchen Verfahrens in der Praxis überwiegen werden, kann sich erst in Zukunft erweisen. Für die intrakardiale Chirurgie würden aber solche Grade von Hypothermie noch keinen entscheidenden Fortschritt bedeuten. Herr BENITTE vertritt die Auffassung, daß das Temperatur-Optimum für chirurgische Eingriffe zwischen 28 und 31° Körpertemperatur liegt. Berechnet man einmal, wie groß die Einsparung an O₂-Verbrauch in diesen Temperaturbereichen sein würde, so stellt man fest, daß bei einer Körpertemperatur von 25° der O₂-Verbrauch etwa $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des Grundumsatzes beträgt. Experimentelle Untersuchungen (GROSSE-BROCKHOFF u. SCHOEDEL¹) ergaben, daß diese theoretisch errechnete Höhe des Energiestoffwechsels bei verschiedenen Körpertemperaturen auch tatsächlich mit den an Hunden experimentell ermittelten Werten übereinstimmt. Es würde dies bedeuten, daß die Wiederbelebungszeiten der Ganglienzellen des Gehirns bzw. der erregungsbildenden Elemente des Herzens bei völliger Drosselung der Blutversorgung etwa 3—4 mal so lang wären wie bei normaler Körpertemperatur. Ich weiß nicht, ob die durch solche Grade von Unterkühlung eintretende Gefährdung in einem rechten Verhältnis zu dem Gewinn steht, den der Operateur für die Durchführung intrakardialer Eingriffe hierdurch erzielt. Verfolgt man die Kurven des Sauerstoffverbrauchs weiter unterhalb von 25° C (s. Abb. 5 in der oben zit. Arbeit), so wäre bei etwa 18° C Körpertemperatur der Punkt erreicht, an dem ein O₂-Verbrauch praktisch nicht mehr meßbar ist. Hier wären die Zellen buchstäblich auf „Eis“ gelegt. Und wenn es möglich wäre, diesen „Organismus ohne Stoffwechsel“ wieder zu beleben, dann hätten wir jenen Zustand von Scheintod erreicht, in dem der Chirurg für genügend lange Zeit auf eine Blutversorgung der lebenswichtigen Organe verzichten könnte. Ein zunächst utopisch anmutender Gedanke.

¹ GROSSE-BROCKHOFF u. SCHOEDEL: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 201, 417 (1943).

Aber LUTZ konnte bereits vor Jahren tierexperimentell zeigen, daß Herzen, die bei hochgradiger Unterkühlung bis zu 72 min stillgestanden hatten, wiederbelebt werden konnten und in Einzelfällen ohne erkennbare Dauerschädigung am Leben erhalten wurden. JUVENELLE, WEGELIUS und LIND kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu ähnlichen Feststellungen. FUHRMANN und FIELD bestimmten den O_2 -Verbrauch und die Glykolyse an Gehirnschnitten von erwachsenen weißen Ratten bei 37,7° C, bei 0,2° C und nach Wiedererwärmung auf 37,7° C. Dauerte die Unterkühlung nicht länger als 1 Std, so zeigten die Zellen nach Wiedererwärmung einen normalen Ablauf der Stoffwechselvorgänge. — Wie ungeheuer kälteresistent lebende Zellen sein können, geht aus vielen Beispielen in der Natur sowie aus zahlreichen experimentellen Befunden hervor, auf die ich nicht näher eingehen kann. Prinzipiell ist es also möglich, den Organismus des Warmblüters durch Kälte in einen scheinototen Zustand zu versetzen und ihn aus diesem Schneewittschenschlaf wieder zu erwecken. Wenn auch die praktische Durchführung solcher tiefen Unterkühlungen in der Chirurgie wegen der großen Risiken, die damit verbunden sind, zur Zeit noch auf unüberwindliche Schwierigkeiten stößt, so sollten dennoch alle unsere Anstrengungen darauf gerichtet sein, im Tierexperiment Verfahren auszubauen, die die Gefahrenmomente immer mehr beseitigen. Hier wird die Technik der Durchführung solcher Unterkühlungen, vor allem in Hinsicht auf die Geschwindigkeit sowie die Art des Wiedererweckens, von großer Bedeutung für Erfolge oder Mißerfolge sein.

3. Mit dem Wiederaufwecken des unterkühlten Warmblüters komme ich zum letzten Punkt meiner Diskussion. Ich meine jetzt nicht das Problem einer schnellen oder langsamen Wiederaufwärmung oder die Stimulierung des stillstehenden Herzens durch elektrische Reize, sondern die Frage der Wirkung von Sympathicomimetica und Analeptica auf den unterkühlten Organismus. Da diese Dinge hier von besonderem Interesse sein dürften, mag es gestattet sein, kurz auf die gemeinsamen Experimente mit SCHOEDEL im Reinschen Institut zurückzugreifen, trotzdem auch diese Untersuchungen bereits mehr als 10 Jahre zurückliegen (GROSSE-BROCKHOFF u. SCHOEDEL¹): Adrenalin in physiologischer Dosierung (bis 0,1 γ /min/kg Körp.-Gew.) hatte am unterkühlten Hund keinen Effekt, höhere Dosen verursachten ein Absinken des Blutdrucks bei allgemeiner Dilatation der Gefäße. Für Veritol und Sympatol gilt das gleiche.

Bei den Analeptica (Cardiazol, Coramin, Lobelin und Strychnin) gelang es mit keinem der geprüften Mittel, in der Lähmungsphase einen therapeutischen Effekt zu erzielen. Zwar trat nach Verabreichung dieser Pharmaka eine deutliche Intensivierung der Atmung auf, gleichzeitig kam es aber zu einer sehr toxischen Kreislaufwirkung. Elektrokardiographische Untersuchungen ergaben, daß diese toxischen Wirkungen durch eine Blockierung der Erregungsbildung im Sinusknoten und der Überleitung vom Vorhof auf die Kammer zustandekommen. Durch Vagotomie, die das EKG des unterkühlten Tieres im wesentlichen unbeeinflußt ließ, konnten die toxischen Wirkungen nach Lobelin, Coramin und Cardiazol beseitigt werden. Es mag sein, daß diese Wirkungen beim Hund besonders stark in Erscheinung treten. Es ist aber anzunehmen, daß es sich dabei um eine allgemein gültige Gesetzmäßigkeit handelt, zumal auch JARISCH zu gleicher Zeit diese Toxizitätssteigerung für Analeptica an Ratten, Mäusen und Kaninchen beobachten konnte. Weitere Untersuchungen mit Acetylcholin klärten uns über das Zustandekommen dieser Blockierungserscheinungen am Herzen auf. Intravenöse Acetylcholin-Injektionen, die am normalen Tier zu einer kurzdauernden Beschleunigung der Pulsfrequenz führten, riefen am unterkühlten Tier starke Blockierungen der

¹ GROSSE-BROCKHOFF u. SCHOEDEL: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 202, 443 (1943).

Erregungsbildung und Erregungsleitung des Herzens hervor, die durch Atropin aufgehoben werden konnten. Diese Befunde dienen als Hinweis, daß die bei der Unterkühlung auftretenden Zeichen der gestörten Erregungsbildung und Erregungsleitung mit Veränderungen des Überträgermechanismus in Zusammenhang gebracht werden können. Es liegt nahe, sie auf ein Versagen der Esterase zu beziehen. Es handelt sich nicht nur um ein pharmakologisches und therapeutisches Problem, sondern diese Veränderungen der fermentchemischen Zellvorgänge scheinen einen wichtigen Kernpunkt im Gesamtkomplex der patho-physiologischen Fragestellungen der Unterkühlung des Warmblüters zu bilden.

RÖTTGEN (Bonn): Bemerkungen zur Winterschlafnarkose in der Neurochirurgie. Daß sich die Neurochirurgie die Gedanken des Herrn LABORIT und Mitarb. so schnell, und was uns betrifft, so begeistert aufgenommen hat, kommt nicht von ungefähr. Für uns bedeutet die Ganglienblockade einen entscheidenden Fortschritt. Daß sich der Neurochirurg gesondert zu Wort meldet, liegt an der besonderen Problematik. Er hat es zusätzlich im allgemeinen mit einem gestörten Regulationszentrum zu tun.

Auch für die Neurochirurgie ist die Stabilisierung des Kreislaufes, die Kollapsbekämpfung und anderes mehr natürlich wichtig. Ja, die künstliche Blutdrucksenkung auf Werte bis 50—60 mm Hg erlaubt uns erst, Hirnaneurysmen relativ gefahrlos abzubinden, um nur dies zu erwähnen. Leider versagt die künstliche Blutdrucksenkung bei jüngeren Menschen sehr oft.

Viel entscheidender scheinen mir jedoch für uns folgende Probleme zu sein.

Ein erhöhter Sauerstoffbedarf des Hirns bei verminderter Hirndurchblutung gefährdet naturgemäß besonders — wie wir dies in der postoperativen Hyperthermie immer wieder erleben — die Regionen des Hirns, die durch Ödem, vor allem aber durch reflektorisch ausgelöste örtliche Kreislaufstörungen bedroht sind. Gerade im Hirn spielen diese reflektorisch ausgelösten örtlichen Kreislaufstörungen durch Gefäßspasmen eine besonders große Rolle. SCHNEIDER hat immer wieder darauf hingewiesen, besonders auf die Mannigfaltigkeit der ursächlich wirkenden Faktoren. Bei der Operation etwa führt die Verletzung kleiner Äste zu Durchblutungsstörungen im Versorgungsbereich des ganzen zugehörigen Gefäßbaumes. Aber auch abgelegene Hirngebiete können betroffen werden. Wir finden nach Hirnoperationen öfters in der postoperativen Phase neurologische Ausfälle, die nur durch örtliche Durchblutungsstörungen weitab vom Orte der Schädigung erklärt werden können. Gerade in der Hirnchirurgie muß sich demnach die Ganglienblockade, und zwar nach zwei Seiten hin, günstig auswirken. Einmal verhindert die medikamentös erzeugte Vasoplegie diese örtlichen spastischen Kreislaufstörungen und verhindert die Mangeldurchblutung. Zum anderen aber setzt die Hypothermie und Stoffwechselreduktion den Bedarf herab. Die Wiederbelebungszeit der Medulla ist bekanntlich bedeutend länger als die der Rinde und der Stammganglien. Die Funktionen des Atemzentrums werden nach vorübergehender Lähmung oft für viele Stunden wieder aufgenommen, während die extrapyramidalen Systeme und die Hirnrinde ihre Tätigkeit nicht wiedererlangen können. Es kommt hinzu: der Sauerstoffbedarf des Hirns ist nach OPITZ und SCHNEIDER bei maximaler Tätigkeit etwa im Krampfanfall doppelt so groß und bei herabgesetzter Funktion, etwa in tiefer Narkose, halb so groß wie normal. Der Strukturstoffwechsel, also die Lebensvorgänge, die bei normaler Temperatur im Ruhestand zur Erhaltung des Gewebes notwendig sind, kommen mit ein Zehntel der normalen Menge Sauerstoff aus. Unterkühlungsversuche haben gezeigt, daß sich die Wiederbelebungszeit nach Ischämie im Tierversuch durch Abkühlung auf ein Vielfaches verlängern läßt. Es muß demnach möglich sein, Hirngewebe, das unter erheblichen Mangelbedingungen steht, durch Ruhigstellung und Abkühlung zu erhalten, das bei

normaler und gesteigerter Funktion und Temperatur irreversible Schäden erleiden würde. Es sind also auf der einen Seite die Verhinderung der reflektorischen Anämien und auf der anderen Seite die erzielte Hypothermie und Senkung des Stoffwechsels durch Blockade des vegetativen Systems, die die verhängnisvollen Folgen der Mangeldurchblutung und Mangelerkennung von Hirngewebe verhindern können. Es ist klar, daß eine solche vegetative Blockade erreicht sein muß, bevor irreversible Schäden eingetreten sind. Dem entsprechen auch unsere klinischen Erfahrungen. Wenn wir die Unterkühlung durchführten, nachdem eine Hyperthermie manifest geworden und die Hirndurchblutung zusammengebrochen war, konnten zwar die tiefen Zentren wieder erweckt werden, die höheren Zentren aber mit ihren kürzeren Wiederbelebungszeiten blieben irreversibel geschädigt und nahmen ihre Funktion nicht wieder auf. Wir haben deshalb auch bei allen diesen Kranken das Leben längstens um einige Tage verlängern können, und damit finden wir uns in Übereinstimmung mit dem Schrifttum. Alle starben spätestens beim Ausschleusen aus der vegetativen Blockade.

Trifft dagegen eine schwere Komplikation einen schon tief Hibernierten, so kann der herabgesetzte Energiebedarf unter Umständen doch genügend befriedigt werden und die Zentren werden nicht irreversibel geschädigt. Wir haben mehrfach Komplikationen bei Tief-Hibernierten folgenlos vorübergehen sehen, die bei Nicht-Hibernierten nach allen Erfahrungen tödlich gewesen wären. Auch beobachteten wir einwandfrei, daß Reiz- und Lähmungserscheinungen, die im Anschluß an Hirnoperationen auftraten und die nur als Folge von spastischen örtlichen Hirndurchblutungsstörungen weitab vom Ort der primären Schädigung ausgelöst sein konnten, durch Vertiefung des Winterschlafes augenblicklich verschwanden.

Entscheidend ist deshalb das rechtzeitige Einsetzen der Blockade. Es steht für uns außer Zweifel, daß dann nicht nur in den operativen Fällen, sondern auch bei intracerebraler Blutung wie Gefäßverschluß Entscheidendes zu gewinnen ist. Die Schwierigkeit besteht — (vielleicht darf ich nach den heutigen Ausführungen von Herrn LABORIT sagen *bestand*) — darin, eine genügende Hibernation lange genug ohne Schädigung durchführen zu können. Das gleiche dürfte dann vielleicht auch für unsere völlig unzureichende Technik in der Anwendung der Hibernation gelten bei Geschwülsten oder sonstigen Erkrankungen, die das Zwischenhirn direkt angreifen, vielleicht auch bei den verschiedenen Hypophysenadenomen. Unsere eigenen Erfahrungen mit den bisherigen Techniken, also ohne Somatotropin, sind so uneinheitlich, daß eine Stellungnahme nicht möglich ist. Hier liegt eines der wichtigsten Probleme für die Hirnchirurgie.

FLÜGEL (Erlangen): Gestatten Sie mir, daß ich zunächst ganz kurz etwas Prinzipielles zur Beurteilung der psychiatrischen Wirkung eines Pharmakons sage.

Die tierexperimentellen Forschungsmethoden sind hier so gut wie ausgeschaltet.

Reagensglas, Waage oder sonstige physikalische Maßnahmen und chemische Reaktionen lassen sich nicht anwenden.

Die Psychiatrie muß sich beschränken auf subtile Verhaltensbeobachtung und die Ergebnisse der Explorationen, wie sie im unmittelbaren Kontakt zwischen Krankem und Arzt gewonnen werden.

Der Pharmakologe mag daher glauben, nicht befriedigt sein zu können von dem, was ihm der Psychiater an die Hand geben kann. Sicherlich zu Unrecht! Aus der psychiatrisch-klinischen Beobachtung lassen sich durchaus brauchbare und allgemein verwertbare Ergebnisse gewinnen. Sie erfordern allerdings oft mehr Zeit und Zahl an Beobachtungsgut wie in manchen anderen Disziplinen. Eine große Hilfe sind die zahlreichen Vergleichsmöglichkeiten zwischen den vielfältigen und klinisch gut erfaßbaren einzelnen Krankheitsvorgängen und den Wirkungen der

verschiedenen bekannten Mittel auf dieselben. Die klinische Psychiatrie hat sich außerdem bemüht, manches seelische Geschehen zu objektivieren und sogar meßbar zu machen. Dies ist in einigen Testverfahren auch gelungen.

Ich glaube, man kann heute sagen, daß diese — sagen wir kurz — Pharmakopsychiatrie der Psychiatrischen Klinik wesentliche Förderung verspricht und auch der Pharmakologie in Zukunft unentbehrlich sein wird.

Ich möchte Ihnen jetzt kurz über die klinischen Erfahrungen mit dem *Megaphen* berichten. Hierbei stütze ich mich auf die Literatur und vor allem unsere eigenen Untersuchungen. Wir haben bisher ein relativ großes, klinisch verschiedenartiges Krankengut untersucht. Die Mehrzahl unserer Fälle hat nur *Megaphen* bekommen, so daß wir tatsächlich von reiner *Megaphen*-Wirkung sprechen können, ohne daß ein potenzierender Effekt auf andere Mittel mit im Spiele sein kann.

In grober Übersicht kann man sagen: Das *Megaphen* bewirkt

1. Schlafzustände;
2. Dämpfung von Unruhe und motorischer Erregung;
3. Beseitigung von Störungserscheinungen, die in das Gebiet des Affektiven fallen, wie Angst, Depression, Dysphorie, manische Exaltationen usw.

Trotzdem würde es falsche Vorstellungen erwecken, wenn man dieses Mittel einordnen wollte in die Gruppe der Hypnotica, Narkotica usw. Denn bei näherer Betrachtung sind die Effekte ganz anderer Art als bei den bisher bekannten Mitteln dieser Gruppen. Es finden sich nur äußere Ähnlichkeiten. Bei der Wirkungsweise des *Megaphens* handelt es sich um ein besonderes Geschehen, das uns ganz neue Probleme aufgibt.

Beginnen wir mit der schlafmachenden Wirkung.

Das *Megaphen* führt in den wirksamen Dosen im Anfang zu Schlafzuständen. Diese Schlafzustände unterscheiden sich aber durchaus von den Schlafzuständen, die durch alle bisher bekannten Mittel erzeugt werden. Der *Megaphen*-Schlaf ist leicht erweckbar und gleicht hierin etwa dem Normalschlaf mittlerer Tiefe. Nach dem Erwecken resultiert keine Schlaftrunkenheit oder Verdöstheit. In vielen Fällen, besonders bei geringeren Dosen kommt es nur zu einer Schlafneigung. Sie hat keinen imperativen Charakter. Ihr wird nur nachgegeben, wenn der Patient nichts zu tun hat oder nichts von ihm verlangt wird.

Trotz laufender weiterer *Megaphen*-Medikation auch mit steigenden Dosen verschwindet dieser Schlaf oder diese Schlafneigung nach einigen Tagen. Sehr eigenartig ist die Tatsache, daß die überwiegende Mehrzahl der Patienten anfangs über eine gesteigerte Trautätigkeit berichtet, die nach einiger Zeit wieder abzuklingen pflegt.

Wir haben uns bemüht, diese Zustände durch vergleichende psychologische Leistungstests vor und 5 Tage nach Beginn der Behandlung näher zu erfassen.

Ich darf wegen Zeitmangel nur kurz die Ergebnisse anführen:

Im Gegensatz zu den Beobachtungen bei Verwendung üblicher Schlafmittel tritt hier in der 2. Testreihe kein Absinken der Leistungsfähigkeit ein. Man kann oft sogar von Leistungssteigerung sprechen. Außerdem scheint eine Minderung der Störbarkeit vorzuliegen.

Die EEG-Untersuchungen, auf die ich nicht näher eingehen möchte, haben auch ein anderes Verhalten als bei üblichen Schlafmittelversuchen gezeigt.

Unruhezustände und Zustände motorischer Erregung werden durch *Megaphen* oft gedämpft, aber nicht in allen Fällen. Wenn wir uns auf Erregungszustände mittlerer Ausprägung beschränken, so ist auffallend, daß sich mit den üblichen Dosen manche Fälle prompt beeinflussen lassen, andere nicht.

Nach unseren Beobachtungen und Untersuchungen ist sehr wahrscheinlich ein direkter Einfluß des Megaphens auf die im engeren Sinne motorischen Apparate peripherer oder zentraler Art nicht anzunehmen.

Dieser Effekt hängt anscheinend zusammen mit der Regelung vitalen seelischen Erlebens. Wenn die unruhige Motorik wesentlich von einer Irritation dieses Erlebens abhängig ist, dann läßt sie sich durch Megaphen beeinflussen. Im anderen Falle nicht.

Außerdem haben unsere Erfahrungen nahegelegt, daß die Dämpfung der Motorik wahrscheinlich gar nicht das Grundlegende der Megaphen-Wirkung ist, sondern der Ausgleich. Da Unruhe besonders häufig eine Äußerungsform der zugrunde liegenden irritativen Noxe ist, fällt deren Dämpfung am häufigsten auf. Als Ergebnis unserer Untersuchung besonders des schizophrenen Formenkreises haben wir auch das Gegenteil eintreten sehen. Wir haben erlebt, daß mit der gleichen Medikation sowohl katatone motorische Erregungen gedämpft werden, aber auch schizophrene Defektzustände mit Haltungsverharrung und geminderter Motorik eine Aufmunterung und Motilitätsanregung erfahren können.

Die ausgleichende Wirkung des Megaphens kommt auch bei dem Einfluß auf das affektive Geschehen deutlich zum Ausdruck.

Das Megaphen ist in der Lage, depressive und dysphorische Zustände, wie Angst, zu beeinflussen, ebenso aber auch euphorisch-exaltative Zustände. Diese Wirkung tritt oft erst nach einiger Zeit ein.

Bei eingehender Beobachtung und näherer Analyse hat sich erkennen lassen, daß das vital irritative dieser Zustände anscheinend der Ansatzpunkt der Wirkung ist. Die vitale Gestimmtheit wird sofort beeinflußt, während die Projektion auf die weitere seelische Verarbeitung, die in bestimmten Bahnen sich vollzogen hat, noch bestehen bleiben kann.

Am deutlichsten hat sich das in unseren Fällen von Angst nachweisen lassen. Die elementare Angststimmung war verschwunden, während der Betreffende noch die Verarbeitung seiner Angst in Form von Furcht vor bestimmten Dingen oder Ereignissen weiter äußerte, nur abgeschwächt und auffallend gleichgültig.

Sie werden sehen, daß für das Schmerzgeschehen bei der Behandlung mit dem nah verwandten Atosil etwas Analoges zu beobachten ist, wie Herr BENTE Ihnen näher ausführen wird.

Wenn wir das Fazit unserer Beobachtungen ziehen, so kann man formulieren, daß es sich bei dem Megaphen um ein Mittel handelt, das anscheinend eine regulatorische Funktion ausübt auf vital vegetative Irritationen in ihrer Auswirkung auf das Erleben der betreffenden Menschen. Wir haben uns bemüht, diesen Tatbestand durch ein möglichst einfaches Wort zu charakterisieren, und ich habe in einer früheren Veröffentlichung von „Harmonisierung der Persönlichkeit“ gesprochen. Bisher ist mir noch nichts Besseres eingefallen.

Wahrscheinlich spielt bei dem Zustandekommen dieses Effektes eine wesentliche Rolle das initiale Auftreten der geschilderten Schlafneigung. Es handelt sich hierbei wohl um ein Bedingungsverhältnis, was den Angelpunkt zur Erhellung der besonderen Wirkung abgeben kann. Ich möchte hierbei noch einmal besonders betonen, daß dieser Schlaf wohl zu unterscheiden ist von dem Schlaf durch die bisher entwickelten Schlafmittel.

Ich möchte noch kurz anfügen, daß für die Wirkung des Megaphens die Art des Krankheitsprozesses, der den Störungen zugrunde liegt, anscheinend eine untergeordnete Rolle spielt. Sowohl bei hirnorganischen als auch bei endogen-psychotischen und sogenannten neurotischen Affektionen kann der geschilderte Megaphen-Effekt beobachtet werden (z. B. Alkoholdelir, Entziehungserscheinungen, Manien und Depressionen, Neurosen usw.).

Weiter ist anzunehmen, daß die Wirkung des Megaphens nur symptomatischer Art ist, da bei vielen Fällen nach Absetzen des Mittels die alten Störungen wieder auftreten können. Bei Erkrankungen, die ihrer Art nach vorübergehend sind, haben wir daher die besten Dauererfolge gesehen, z. B. bei den endogenen Depressionen und Intoxikationen.

Zum Schluß darf ich sagen, daß das Megaphen ein ganz neuartiges Mittel darstellt, das für den Psychiater von außerordentlichem Interesse ist. Meine Ausführungen konnten nur skizzieren, in welcher Richtung seine Wirkungen liegen. Es obliegt noch eingehender klinischer Forschung, um die aufgetauchten interessanten Fragen zu klären und zu lösen. Wie aus den Mitteilungen aller, die damit gearbeitet haben, hervorgeht, kommt schon heute diesem Mittel für die psychiatrische Klinik eine eminent praktische Bedeutung zu.

D. BENTE (Erlangen): Zur Wirkung des Phenothiazinkörpers Atosil auf das Schmerzgeschehen¹. Seitdem wir vor 1½ Jahren bei der Behandlung eines schweren Schmerzsyndroms einen eigenartigen, fast leukotomieähnlich anmutenden Effekt des Atosils beobachten konnten, haben wir uns eingehend mit den Wirkungen dieses Phenothiazinkörpers auf das Schmerzgeschehen beschäftigt. Was das von uns untersuchte klinische Material anbelangt, so handelt es sich um Schmerzzustände verschiedener Ätiologie — im wesentlichen um Stumpf- und Phantomschmerzen, um kausalgiforme Bilder, um Zustände bei Affektionen der Wirbelsäule und um Schmerzen bei organischen Erkrankungen des Nervensystems. Ausschlaggebend für die Anlage unserer Untersuchungen waren neben dem unmittelbaren therapeutischen Nutzeffekt vor allem die Klärung der Frage, inwieweit sich am klinischen Material konstante pharmakologische Effekte herausheben lassen, welche psychophysiologische Struktur dieselben aufweisen und was für Schlüsse hinsichtlich der Wirkungsweise sich hieraus eventuell ziehen lassen.

Unsere Ergebnisse lassen sich etwa folgendermaßen zusammenfassen:

Das Phänomen des Spontanschmerzes, insoweit es den Charakter einer elementaren Schmerzensation hat, wird nur in geringem Maße beeinflusst. Der Kranke nimmt den Schmerz nach wie vor als solchen wahr, wobei derselbe nichts an lokaler Bestimmtheit und qualitativer Prägnanz verliert. Was dagegen die räumliche Konstanz der Schmerzprojektion betrifft, so ist bei gewissen Schmerzformen, welche sich dem Typus des Oberflächenschmerzes annähern, eine Verschiebung in die tiefen somatischen Substrate zu beobachten. Oberflächenhyperalgesien bilden sich zurück, während der Tiefendruckschmerz kaum beeinflusst wird. In diesen Fällen findet sich bei palpatorischer Untersuchung oft eine Rückbildung bestimmter, in der Subcutis gelegener bindegewebiger Konsistenzänderungen, während der reflektorische Muskelhypertonus nicht verändert wird. Vor allem werden die dem Schmerzprozeß innewohnenden Irradiations- und Generalisierungstendenzen deutlich blockiert. Der Schmerz wird gleichermaßen eingengt und fokussiert. Das Kommen und Gehen dieser Phänomene konnten wir mit Hilfe von Auslaßversuchen bei Schmerzsyndromen zentraler Genese — beispielsweise in Fällen von Syringomyelie — beliebig oft reproduzieren. Da wir synchron hiermit deutliche Intensitätsschwankungen in der Ausprägung zentraler neurologischer Symptombildungen beobachten konnten, handelt es sich bei dieser Beeinflussung des Schmerzvorganges sicherlich nicht allein um einen peripheren Antihistamin-effekt, etwa durch Blockierung histaminergischer Nerven, sondern bereits um den Ausdruck zentralnervöser Erregbarkeits- und Schwellenveränderungen.

¹ Bei dem Atosil-Bayer handelt es sich um das Dimethylamino-2-methyl-1-äthyl-N-dibenzoparathiazin.

Die Hauptwirkung des Atosils richtet sich aber auf eine Gruppe komplex strukturierter Phänomene, die man mit einem kurzen Kennwort als Dysaesthesien bezeichnen kann. Diese tauchen fast regelmäßig im Rahmen ascendierender Schmerz- und Irritationssyndrome — wie beispielsweise der Causalgie — auf und verleihen dem klinischen Erscheinungsbild derselben ein charakteristisches Gepräge. Bei den genannten Dysaesthesien handelt es sich um körperschematisch-projizierte, gefühlsartig getönte komplexe Mißempfindungen, welche klar von elementaren Schmerzsensationen unterschieden werden. Sie weisen jedoch meist eine peinlich-schmerzhaftige Note auf und können sich mit intensivem Schmerz zu hyperpathischen Phänomenen amalgamieren. Hierher gehören eine ganze Reihe charakteristischer, zwischen Gefühl und Empfindung schwankender Erlebnisqualitäten — beispielsweise Gefühle eines innerlichen Wundseins, eigenartige Spannungs- und Völlempfindungen, drückende Schweregefühle und lästig vibrierende Sensationen. Psychopathologisch und psychologisch-genetisch betrachtet gehören diese Dysaesthesien einer ursprünglichen Schicht von synaesthetischen Vitalempfindungen (WERNER, KRETSCHMER) an, die durch ihre starke Tendenz zur Subjektivierung und durch ihre Drangnähe ausgezeichnet sind. Sie sind dem Subjekt sozusagen auf den Leib geschrieben und haben daher eine ausgeprägte, vital-irritative Komponente. Verhaltensmäßig gehen diese dysaesthetischen Sensationen daher auch meist mit einer agitiert-gespannten Fixierung der Aufmerksamkeit, entsprechenden mimischen Äußerungen und motorischen Unruheerscheinungen einher.

In dieser Symptomschicht liegt nun nach unseren Erfahrungen ein prädiskretiver Angriffspunkt des Atosils. Der geschilderte dysaesthetische Komplex wird durch Atosil meist aufgelöst oder in eine elementare Schmerzempfindung verwandelt. Wesentlich ist, daß das in der Dysaesthesie wirkende, vital-irritative Moment, das die starke Subjektbezogenheit der sensorischen Reizgestalt bedingt, einer Eliminierung verfällt. In dieser Beeinflussung der dysaesthetischen Sensation und ihrem Strukturwandel haben wir ein ausgezeichnetes phänomenologisches Modell, um auch die eigenartige Wirkung dieses Phenothiazinkörpers auf den Schmerz zu verstehen. Der Schmerz verändert weder seine Empfindungsqualität noch sein Lokalzeichen — Schmerz bleibt Schmerz. Aber der Schmerz verliert ebenfalls die ihm innewohnende subjektbezogene Irritation. Er geht jener vital-stimulierenden Signalfunktion (BILZ und LORENZ) verlustig, welche das biologische Subjekt in die Verhaltensweisen des Kampfes, der Aggressivität oder der Flucht zwingt. So wird der Schmerz distanziert, objektiviert und versachlicht — d. h. praktisch klinisch gesprochen gebessert. Indem der Schmerz vom Leibe rückt, gewinnt das Subjekt die Freiheit seines vitalen Spielraumes.

Über welche Funktionssubstrate kommt dieser durch Atosil bewirkte, psychophysiologische Umstimmungsprozeß zur Entfaltung? Wir haben uns bemüht, zur Lösung dieser Frage einige klinische Indizien zu sammeln. Da der genannte dysaesthetische Typus in halbseitiger körperschematischer Projektion einen charakteristischen Bestandteil des klassischen Thalamussyndroms (HEAD) ausmacht, haben wir mehrere, primär organisch bedingte Thalamussyndrome mit Atosil behandelt. Wir beobachteten auch hier — unter Auslaßversuchen kontrolliert — den gleichen, oben beschriebenen Effekt. Darüber hinaus sahen wir bei diesen Fällen weitere eindrucksvolle Wirkungen des Atosils auf spezifisch-thalamogene Symptomproduktionen — beispielsweise auf ausgeprägte Körperschemastörungen, halbseitig gerichtete Adversivautomatismen mit triebhaft anspringender Aggressivschablone und auf Zwangsaffekte i. S. der pseudoaffektiven Reflexe SHERRINGTONS. Nach diesen Beobachtungen, die eine spezifische Hemmung und Blockierung thalamischer Reizerscheinungen durch Atosil zeigen, spricht — wenn man eine Arbeitshypothese formulieren darf — vieles dafür, daß dieser Phenothiazinkörper direkt oder in-

direkt auf thalamische Funktionsstrukturen einwirkt. Setzt man die zur Frage der Thalamusfunktionen vorliegenden pathophysiologischen und experimentell-reizphysiologischen Ergebnisse (H. HOFF, W. R. HESS u. Mitarb., MONNIER) in Beziehung zu der Art der von uns beobachteten Effekte, so läßt sich ein Angriffspunkt an palaeothalamisch-reticulären Functionssubstraten und dem von MONNIER postulierten Integrationsapparat vermuten. Hier eröffnet sich eine Reihe interessanter Perspektiven und — wie wir glauben möchten — auch ein fruchtbarer Ansatzpunkt für die experimentelle Forschung.

Angemeldete Diskussionsbemerkungen.

MALORNY (Kiel): Nicotinolytische und adrenolytische Wirkungen der Ganglioplegica. E. ZAIMIS¹ teilt die Ganglioplegica ein in Substanzen, die die Ganglienzellen anhaltend depolarisieren, und in Substanzen, die die Wirkung des ACh kompetitiv hemmen. Wir glauben, daß hierbei die Peripherie des vegetativen Nervensystems nicht genügend berücksichtigt wird.

Zur Charakterisierung der Ganglioplegica wurden gemeinsam mit F. K. OHNE-SORGE die nicotinolytischen und adrenolytischen Wirkungen an der Nickhaut und am Blutdruck der Katze geprüft. Die Ganglioplegica lassen sich in 3 Gruppen einteilen:

Die 1. Gruppe umfaßt die Stoffe, die die Adrenalinwirkung unverändert lassen oder sogar steigern. Die Nicotinwirkung ist dabei abgeschwächt oder erloschen. Die Passage für den elektrischen Reiz ist partiell oder total geblockt. Hierher gehören Curare, Mg⁺⁺, TEA und Spartein einerseits, Pentamethonium, Hexamethonium und Pendiomid andererseits. Diese Substanzen wirken also nicht sympathicolytisch.

In der 2. Gruppe stehen die Phenothiazinderivate „Latibon“, „Atosil“, „Padi-sal“ und „Megaphen“. Mit Ausnahme des Latibons sind hier sowohl die Nicotinwirkungen als auch besonders die Adrenalinwirkungen abgeschwächt oder erloschen. Die adrenolytischen Wirkungen nehmen in der oben angegebenen Reihenfolge zu.

Als 3. Gruppe werden die Sympathicolytica 933F und Ergotamin, die am Scheidewege zur vegetativ-nervösen Peripherie stehen, aufgeführt. Der präganglionäre Reiz ist abgeschwächt, da die Nickhaut als Erfolgsorgan offenbar selbst betroffen ist. Nach 933F reagiert die Nickhaut mit Erschlaffung (Tonusverlust), nach Ergotamin mit einer Dauerkontraktion. Die Nicotin- und Adrenalinwirkungen sind erloschen.

Auch beim parasympathischen Nervensystem bestehen enge Beziehungen zwischen Ganglienblockade und den vegetativen Erfolgsorganen. Hier wird die Beeinflussung der Herzfrequenz durch Reizung des peripheren Vagusstumpfes mit der Wirkung des Acetylcholins auf Herz und Kreislauf verglichen.

REMMER (Berlin): Das Verhalten von Kreislauf und Blutvolumen nach Ganglienblockierung mit Pendiomid. Bei der Anwendung ganglienblockierender Mittel, besonders in der Narkose, sind trotz erheblicher Blutdrucksenkung über längere Zeit nur in wenigen Ausnahmen größere Hypoxieschäden beobachtet worden. Wie aber kann unter diesen abnorm veränderten Bedingungen eine ausreichende Blutversorgung der Organe aufrechterhalten werden?

In Versuchen an Hunden und Katzen, die mit Pernoceton oder Urethan narkotisiert waren, beobachteten wir regelmäßige bereits bei kleineren Dosen Pendiomid, 0,5—1,0 mg/kg, ein Einströmen von Gewebsflüssigkeit in die Blutbahn, wenn der

¹ ZAIMIS, E.: Acta Neuroveg. 7, 115 (1953).

Blutdruck sank, und den entgegengesetzten Effekt, ein Flüssigkeitsaustritt, wenn der Blutdruck wieder anstieg.

Der Mensch verhält sich genau so. Wir untersuchten in Zusammenarbeit mit Herrn JUST, dem Anaesthesisten der chirurg. Klinik in Berlin, bisher 3 Patienten in N₂O-Evipan-Narkose und bestimmten Plasmavolumen und Kreislaufveränderungen mit der Methode nach BROEMSER und RANKE. In allen 3 Fällen fanden wir das gleiche Verhalten. Vor und nach Pendiomid wurde die gleiche Menge EVANS-Blau injiziert und seine Verteilung verfolgt, wobei die Patienten schräg, etwa 20–25°, Beine nach unten, gelagert waren. Blut wurde sowohl aus der V. cubitalis als auch aus der V. saphena der tief gelagerten Füße entnommen. Das Plasmavolumen stieg in wenigen Minuten um mindestens 30% nach Pendiomid an, wenn der Blutdruck seinen tiefsten Wert erreichte.

Ein Vergleich des Plasmavolumens, das sich in etwa aus der Farbstoffkonzentration berechnen läßt, mit den Kreislaufgrößen zeigt, daß Blutdruck und peripherer Widerstand erheblich absinken, viel weniger dagegen das Herzminutenvolumen.

Der rückläufige Vorgang, der Wiedereintritt der Flüssigkeit in die Strombahn, ist eher beendet als die Rückkehr des Blutdruckes zum Ausgangswert.

Nach den bisherigen Erfahrungen ist ein erheblicher Blutdruckabfall, der durch extreme Gefäßerweiterung und Blutfülle in den Capillaren zustande kommt, wie z. B. in den verschiedenen Schockzuständen, verknüpft mit einem Versagen des Kreislaufs. Die Kapazität des erweiterten Gefäßvolumens steht im Mißverhältnis zur vorhandenen Blutmenge. Der venöse Rückstrom wird geringer, das H.M.V. sinkt. Durch Zentralisation gelingt es dem Organismus, dieses Mißverhältnis noch auszugleichen. Diese Reaktion ist aber bei Ganglienblockade fast vollständig unterbunden. Durch Erhöhung der zirkulierenden Flüssigkeitsmenge wird das vergrößerte Gefäßsystem wieder aufgefüllt. Es ist anzunehmen, daß diese Reaktion dazu beiträgt, den venösen Rückstrom und damit das H.M.V. von einem allzu starken Absinken zu schützen.

MARQUARDT, P., und HIL. SCHUMACHER (Freiburg): Über die pressorische Bereitschaft des Blutdrucks nach Megaphen, Methylenblau und Phenothiazin. Wir haben uns vorzüglich mit der als „sympathicolytisch“ bezeichneten Wirkung des Megaphens beschäftigt, indem wir die pressorische Bereitschaft des Organismus auf die Systemstoffe Adrenalin und Arterenol überprüften. Dabei stellte sich heraus, daß die sogenannte „Adrenalinumkehr“ unter Megapheninfusion ebenso häufig zu erzielen ist wie etwa nach Hydergin. Die hierfür notwendigen Dosen liegen bei unserem Tiermaterial zwischen 15–40 mg/kg. — Während man aber von einem Sympathicolyticum fordern kann, daß die Arterenolwirkung nach Dosen, die eine „Adrenalinumkehr“ hervorrufen, gegen Null konvergiert, ist dies nach Megaphen nicht der Fall. Wir sahen nach Megaphen nur eine mehr oder weniger geringfügige Abschwächung des Arterenolausschlags und entsprechend der sedativen Wirkung einen verlangsamten Reaktionsablauf.

Verwenden wir also die „Adrenalinumkehr“, auf deren Problematik wir hier nicht näher eingehen können, als Kriterium, so fällt Megaphen nach unseren Versuchen an 25 Katzen nicht unter den Oberbegriff der Sympathicolytica, sondern unter den Teilbegriff der Adrenolytica.

Ähnlich verhält sich der Grundkörper des Megaphens, das Phenothiazin¹.

Methylenblau, ebenfalls ein Phenothiazinderivat, von dem KONZETT schon 1938 berichtete, daß es die Chloralhydrat- und Barbituratwirkung potenziert, ver-

¹ Wegen seiner Schwerlöslichkeit wurde das Phenothiazin in Wasser aufgeschwemmt und intraperitoneal injiziert.

hielt sich ebenso. Es wirkt also auch adrenolytisch. Die für eine Adrenalinumkehr notwendigen Dosen an Methylenblau betragen etwa das Doppelte von denen des Megaphens.

P. HOLTZ unterscheidet nun bekanntlich zwischen adrenergischer und arterennergischer Innervation. Im Arterenol erblickt er den „eigentlichen“ physiologischen Sympathicusstoff, während er das Inkrafttreten von Adrenalin auf die Ausübung der Notfallsfunktion im Sinne CANNONS beschränkt.

Diese „Systemwirkung“ des Adrenalins tritt meist überschießend und somit, wie dies allgemein bekannt ist, oft „gefährdend“ auf, z. B. während chirurgischer Eingriffe oder nach RAAB auch bei funktionellen oder degenerativen Herzkrankheiten. RAAB bezeichnete deshalb vor kurzem das Adrenalin als einen kardiotoxischen Faktor ersten Ranges. Solche Adrenalinwirkungen werden durch Megaphen oder ähnlich wirksame Pharmaka unterdrückt.

Die Arterenolwirkung hingegen, die, wie HOLTZ es wörtlich ausdrückt, noch zur „Erfüllung der physiologischen Aufgaben und Anforderungen“ ausreicht, bleibt unter Megapheneinwirkung erhalten.

In dieser vorzüglich adrenolytischen Wirkung des Megaphens sehen wir eine Begründung für seine Anwendung in der klinischen Medizin.

W. WIRTH (Wuppertal-Elberfeld): Versuche zur kombinierten Wirkung von Megaphen mit stark wirksamen Analgeticis. Die französische Forschungsgruppe COURVOISIER, FOURNEL, DUCROT, KOLSKY u. KOETSCHET¹ hat an Mäusen nachgewiesen, daß Megaphen² die analgetische Wirkung von Morphin und Dolantin erhöht. Wir haben diese Befunde erweitert.

In unseren Versuchen an Ratten und Meerschweinchen wurden die analgetischen Grenzdosen von Morphin, Dolantin und von Cetarin (rac.-3-Oxy-N-methyl-Morphinan) bei gleichzeitiger Anwendung von Megaphen auf etwa die Hälfte bis auf ein Drittel gesenkt. Megaphen selbst hatte hierbei keine erkennbare analgetische Wirkung. Bei diesen Versuchen machten wir die Erfahrung, daß die Methoden mit mechanischer oder elektrischer Reizung die Steigerung der Analgetica-Wirkung durch Megaphen deutlicher hervortreten lassen als die Anwendung der Wärmestrahlm-Methoden nach WOLFF-HARDY-GOUELL. Am Mäuseschwanz, an dem sich gerade nach der Wärmestrahlm-Methode die Wirkung der starken Analgetica sehr gut quantitativ bestimmen läßt, war die Nachweisbarkeit der Wirkungssteigerung durch Megaphen unsicher. Geeigneter erwies sich jedoch der sogenannte TWICH-Test am enthaarten Rücken von Ratten und Meerschweinchen, bei dem ein fokussierter Wärmestrahls zu einer charakteristischen Zuckung der Hautmuskulatur führt. Auch nach der Reizsummations-Methode von RÉGNIER-AMSLER-EICHHOLTZ an der Kaninchen-Cornea war eine Wirkungsverstärkung der genannten Analgetica durch Megaphen festzustellen. In diesem Test bewirkt Megaphen bei subcutan oder intravenöser Einspritzung ebenfalls eine Verlängerung der Hornhaut-Anaesthesia durch Novocain. — Unsere Analgesie-Versuche lassen demnach eine recht unterschiedliche Ansprechbarkeit der verschiedenen Rezeptoren auf die hier angewandten Präparat-Kombinationen erkennen.

Weiterhin stellten wir Versuche zur Frage an, ob mit der Verstärkung der Analgesie durch Megaphen auch gewisse Nebenwirkungen geändert würden:

Die Toxizität der Analgetica fanden wir in Übereinstimmung mit COURVOISIER hinsichtlich der letalen Dosen bei gleichzeitiger Megaphen-Verabreichung in Versuchen an Mäusen und Meerschweinchen unverändert.

¹ Arch. intern. pharmacodyn. therap. 92, 305 (1953).

² Megaphen = N-(3'-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin.

Die bei den stark wirksamen Analgeticis vielfach zu beobachtende *Diureseshemmung* wurde — am Beispiel Cetarin an Ratten geprüft — durch Megaphen nicht verstärkt, eher etwas abgeschwächt.

Da bei gleichzeitiger Megaphen-Verabreichung geringere Analgetica-Dosen zur Erzielung des gleichen analgetischen Effektes ausreichen, wirkt sich demnach der Megaphen-Zusatz hinsichtlich Diureseshemmung durch die Analgetica und ihrer allgemeinen Toxizität praktisch günstig aus.

Die *atmungsämpfende Wirkung* der Analgetica wurde durch Megaphen, das selbst die Atmung verflacht und verlangsamt, in Spirometer-Versuchen an nicht-narkotisierten Kaninchen additiv verstärkt.

Auf die Analgetica-Gewöhnung hatte Megaphen an Ratten keinen deutlichen Einfluß, d.h. Analgetica-Grenzdosens wurden bei täglicher subcutaner Einspritzung in der gleichen Zeit (innerhalb von 14 Tagen) schwächer wirksam, unabhängig davon, ob Megaphen gleichzeitig angewendet wurde oder nicht (Versuche mit Cetarin an Ratten).

Schließlich untersuchten wir, ob die Wirkungsverstärkung der Analgetica im Zusammenhang mit der temperaturherabsetzenden Wirkung von Megaphen steht:

In Versuchen an Mäusen, die gemeinsam mit VORMANN angestellt wurden, bewirkte Abkühlung im Kühlschrank bis auf 25° C rectal keine erhöhte Steigerung der Analgetica-Wirkung durch Megaphen. Der Kühleffekt des Megaphen wurde bei dieser Versuchsanordnung besonders deutlich durch Cetarin unterstützt. Auch an Kaninchen, an denen wir Kombinations-Versuche nach der Reizsummations-Methode von RÉGNIER bei Zimmertemperatur bei gleichzeitiger Kontrolle der Körpertemperatur ausführten, war ein derartiger Zusammenhang nicht erkennbar.

H.F. ZIPF (Bonn): Die Beeinflussung der hypnotischen Wirkung von Luminal und Evipan durch Kombination mit Megaphen und anderen Phenothiazinderivaten. Die „potenzierte Narkose“ ist im chirurgischen Sprachgebrauch schon seit längerer Zeit vertreten. Sie wird häufig dann angenommen, wenn Narkosemittel „eingespart“ werden. Diese Annahme kann eine trügerische sein. Auch bei additivem, ja sogar bei antagonistischem Verhalten der Partner werden „Einsparungen“ beobachtet. Entscheidend ist, daß die „Einsparung“, mit anderen Worten, die Dosengröße, eine bestimmte Grenze unterschreitet. Um dies sicher festzustellen, benutzt man zweckmäßig das graphische Verfahren von LOEWE. Wir haben in dieser Hinsicht Kombinationen aus Megaphen und ähnlichen Derivaten mit Barbitursäurederivaten untersucht.

Wir prüften zunächst die *hypnotische Wirkung* subcutaner Kombinationen aus Luminal und Megaphen an weißen Mäusen. Kriterium: Herabfallen von einer schiefen Ebene. Entsprechend den graphischen Kombinationsprinzipien von LOEWE trugen wir die minimal hypnotische Dosis von Megaphen allein auf der Ordinate, diejenige von Luminal allein auf der Abszisse auf. Zwischen beiden Koordinaten befindet sich das Feld aller möglichen Kombinationen, das wir durch einen mittleren und zwei seitliche Mischstrahlen sondierten. Verbindet man die hypnotischen (isodynamen) Dosen von Luminal und Megaphen durch eine Gerade, die „Additionsgerade“, dann müssen sich bei additivem Verhalten alle wirksamen Kombinationen längs dieser additiven Dosengrenzlinie vom Felde der unwirksamen Kombinationen abgrenzen. In Wirklichkeit schwingt die Dosengrenzlinie in die Richtung der kleineren Dosen aus. Dies bedeutet *synergistisches Verhalten* von Megaphen und Luminal. — Die minimal tödliche Dosis von Luminal beträgt 3 mg/kg subcutan. Bei Zumischung von 0,07 mg/kg Megaphen und Einhaltung einer Außentemperatur von 30° C bleibt die minimal tödliche Dosis praktisch in gleicher Höhe, wie bei Luminal allein. Die narkotische Breite ist jedoch deutlich vergrößert.

Bestimmt man die *minimal tödliche Dosis* für die Kombinationen von Megaphen und Luminal, dann ergibt sich ein Ausschwingen der Dosengrenzlinie in das Feld der größeren Dosen, d. h. ein einwandfreier relativer *Antagonismus*, am deutlichsten im Gebiet des Mischstrahles Luminal:Megaphen wie 4:1. In diesem Bereich ist auch der größte Synergismus der hypnotischen Wirkung, im ganzen also die größte narkotische Breite vertreten.

Auch bei *Luminal + Atosil* und *Luminal + Latibon* konnte eine subcutane, *synergistische* Schlafwirkung beobachtet werden. Bei *Luminal + Dibutil* ergab sich nur ein *additives* Verhalten.

Überraschend waren die Ergebnisse mit *Evipan + Megaphen* subcutan. Bei *gleichzeitiger* Verabreichung beider Stoffe verlief die hypnotische Grenzlinie im Felde des *Antagonismus*, bei Vorausinjektion von Megaphen (10 min vorher) jedoch im Felde des *Synergismus*.

Bei der Kombination *intravenöser* Dosen von *Evipan und Megaphen* ergab sich der stärkste *Antagonismus*. Aber auch hier ließ sich noch eine Verbesserung des Kombinationseffektes erkennen, wenn wir Megaphen 10 min voraus injizierten. Der Antagonismus fiel geringer aus. — Aus der Praxis der intravenösen Evipan-narkose wird sich ohne weiteres zu erkennen geben, ob es sinnvoll ist, beim Menschen mit Megaphen oder ähnlichen Stoffen zu kombinieren, vor allem, ob die Vorausbehandlung mit Megaphen doch noch synergistische Kombinationseffekte liefert.

Zugehörige Abbildungen finden sich in der Mitteilung von H. F. ZIPF und R. AISTAEDTER, die demnächst in der „Arzneimittelforschung“ erscheint.

H. FRIEBEL (Bonn): Zur chemischen Konstitution und pharmakologischen Wirkung einiger Phenothiazinderivate. Den vorausgegangenen Referaten konnte man entnehmen, daß die hier besprochenen Substanzen aus der Phenothiazinreihe einerseits „multilokale“ Wirkungen (LABORIT) haben, daß sie aber andererseits einzelne dieser Wirkungen — von Substanz zu Substanz wechselnd — besonders kräftigt ausgeprägt besitzen. Gemeinsam mit FLICK und REICHLE habe ich mir die Frage gestellt, ob man die hervorragende Ausprägung einer Wirkungsqualität mit bestimmten Merkmalen der chemischen Konstitution in Zusammenhang bringen darf. Wir sind uns selbstverständlich darüber im klaren, daß derartigen Bemühungen relativ enge Grenzen gezogen sind.

Wir haben die untersuchten Stoffe Rp 3015, Latibon, Rp 3276, Megaphen, Atosil, Dibutil und Padisal an Hand ihrer Konstitutionsformeln in Gruppen eingeteilt. Rp 3015 und Latibon sind Äthanolamin-Derivate. Atosil und Padisal sind Isopropanolamin-Derivate. Rp 3276 und Megaphen sind Propanolamin-Derivate. Bei den Äthanolamin-Derivaten und den Isopropanolamin-Derivaten fanden wir kräftige Wirkungen gegenüber dem Histamin-, zum Teil auch Acetylcholinbronchospasmus; eine Steigerung der analgetischen und temperatursenkenden Wirkung von Pyramidon konnte aber entweder gar nicht oder nur mit hohen Dosen erreicht werden. Bei den Propanolamin-Derivaten fanden wir schwache antihistaminische und gegen Acetylcholin gerichtete Wirkungen, während die analgetische und hypothermische Wirkung von Pyramidon bedeutend verstärkt wurde. Die Formelbilder der Äthanolamin-Derivate und der Isopropanolamin-Derivate auf der einen Seite und der Propanolamin-Derivate auf der anderen Seite unterscheiden sich im wesentlichen durch den Abstand von N zu N. Ob man hierin die Ursache für die auffallende Verlagerung des Schwergewichts ihrer pharmakologischen Wirkung sehen darf, ist eine noch offene Frage. Für die Weiterentwicklung auf diesem Gebiet wäre es wertvoll zu wissen, ob in Substanzgruppen von anderem Aufbau, aber ähnlichen pharmakologischen Wirkungen entsprechende Beobachtungen gemacht worden sind.

In der Gruppe der Äthanolamin-Derivate und in der Gruppe der Isopropanolamin-Derivate haben wir Substanzen untersucht, deren endständiger Stickstoff

entweder mit 2 Methylgruppen oder mit 2 Äthylgruppen besetzt war. Die methylierten Derivate Rp 3015 und Atosil zeigten eine Betonung der Antihistaminwirkung. Wenn der endständige Stickstoff mit Äthylgruppen besetzt war (Dibutil), trat die Antiacetylcholinwirkung — die nur bei den Isopropanolamin-Derivaten ins Gewicht fällt — deutlicher in Erscheinung. Dieses Verhalten ist bereits in Substanzgruppen mit andersartiger chemischer Konstitution nachgewiesen worden. HAAS hat in seiner Monographie über Antihistaminkörper darauf hingewiesen.

Die Antihistamin- und Antiacetylcholinwirkung, allerdings auch die akute Toxizität waren wesentlich erhöht, wenn der endständige, sonst tertiäre Stickstoff mit Methylgruppen quartär gemacht worden war (Padisal).

Rp 3276 und Megaphen — beide Propanolamin-Derivate — unterscheiden sich im Aufbau lediglich durch ein Chloratom, das bei Megaphen in das Ringsystem in 3-Stellung eingefügt ist. Wenn man diese Substanzen in Wasser löst, färbt sich die chlorfreie Substanz Rp 3276 bald zunehmend violett, während die Megaphenlösung farblos bleibt. Das Einführen des Chloratoms hat anscheinend zu einer Verbesserung der Stabilität geführt. Hinsichtlich der pharmakologischen Eigenschaften haben wir keinen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Substanzen nachweisen können. Bei früheren Versuchen mit Antihistaminkörpern habe ich gesehen, daß das Einführen eines Chloratoms in den aromatischen Teil sowohl zu einer Verstärkung der Antihistamineigenschaften (z. B. bei Chlortrimeton) als auch zu einer Abschwächung dieser Wirkung gegenüber der chlorfreien Vergleichssubstanz führen kann. Wir haben auch jetzt wieder die Erfahrung gemacht, daß man im allgemeinen nicht voraussagen kann, welche Folgen die Einführung eines Chloratoms für die pharmakologische Wirkung hat. Diese Meinung wird auch von HAAS vertreten.

Neben diesem Beitrag über die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung konnten wir die Kenntnis pharmakologischer Eigenschaften der gepriüften Phenothiazinderivate um 2 Befunde erweitern:

1. Die temperatursenkende Wirkung von Megaphen wird durch gleichzeitig gegebenes Pyramidon erheblich verstärkt. Bei der Maus werden nicht nur erheblich tiefere Temperaturen erreicht, der Temperatursturz tritt unmittelbarer und steiler auf, er klingt aber auch wesentlich schneller ab als nach ausschließlicher Megaphengabe.

2. Dibutil fördert die Harnausscheidung von Mäusen und Meerschweinchen etwas stärker als 7-(β -Oxyäthyl)-theophyllin bei gleichen Dosen.

Diese summarisch vorgetragenen Ergebnisse sollen in der „Arzneimittelforschung“ in ausführlicher Darstellung erscheinen.

v. WERZ (München): Zur Problematik des „künstlichen Winterschlafs“. Als ich mich vor Jahren mit der Unterkühlung (UK) zu befassen begann, wurde von den Physiologen zumeist die Ansicht vertreten, daß der sogenannte Kältetod auf einer *Lähmung cerebraler und kardialer Zentren* beruht. Bestünde diese Auffassung zu Recht, so könnten wir heute nicht verstehen, daß man, wie wir sahen, den Kältetod gerade durch Stoffe von vorwiegend lähmender Wirkung (Neuroplegia, Narkotica) hinauschieben, bzw. das Risiko einer UK vermindern kann.

Wenn man die Phenothiazine indessen nicht bloß empirisch anwenden und auf ein tieferes Verständnis ihrer Wirkung verzichten will, so muß man über eine Auffassung des Kältetodes verfügen, die auch die günstige Wirkung dieser Stoffe bei UK unter die erklärbaren Tatsachen einbezieht.

Es ist nun solange nicht möglich, diese Dinge einheitlich zu verstehen, als man nicht die schlechthin beherrschende *Schlüsselstellung* anerkennt, die dem *Hämoglobin als Engpaßfaktor* bei der UK zukommt. Sinkt doch der Dissoziationsdruck des Hb für je 10° Temperaturerniedrigung um etwa vier Fünftel!

So sollte man auch, wenn man sich den Winterschläfer programmatisch zum Vorbild nimmt, nicht im Unklaren darüber sein, worin die Gefahr besteht, der er durch sein eigentümliches Verhalten — den Verzicht auf Wärmeregulation (WR) — entgeht. Ich glaube schon früher gezeigt zu haben (v. WERZ³), daß er sich so verhält nicht um „Schockfest“ zu werden, sein vegetatives NS zu „stabilisieren“ oder ähnlichen klinischen Idealbegriffen zu entsprechen, sondern vor allem, um dem Tod in der „Sauerstoffschere“ zu entgehen, zu dem er sonst *als Besitzer von Warmblüter-Hb* unfehlbar verurteilt wäre!

Gemeinsam mit W. LUTZ¹ haben wir uns gleichsam um eine erste geographische Vermessung des Gesamtgebiets der UK bemüht und man wird sich ihres Ergebnisses mit Vorteil bedienen, wenn man dieses Land künftig für die Chirurgie fruchtbar erschließen will.

Eine „Landkarte“ dieses Gebietes läßt vor allem 2 Zonen erkennen:

1. Im Bereich sehr tiefer Körpertemperaturen (in den man „lebend“ nur unter Ausschaltung der WR gelangt), sind Zeichen manifesten O₂-Mangels nicht nachweisbar, weil hier die Leistung der Zelle dem erniedrigten O₂-Druck angepaßt ist („Zwangspoikilothermie“ nach LUTZ mit Aufhebung des Alles-oder-Nichts-Gesetzes).

2. Über dieser Zone, die nach unten fließend in den echten Kältescheintod übergeht, liegt das breite Gebiet mäßiger Untertemperaturen, in dem eine starke Diskrepanz von O₂-Verbrauch und -Angebot (pO₂) besteht, weil der Engpaß Hb die Befriedigung des hier noch erhöhten Bedarfs nicht dauernd gestattet.

Hält man Tiere für länger in Zone 2 (in der sich gerade der „künstliche Winterschlaf“ abspielt!), so sterben sie nach einer Zeit, die der Diskrepanz proportional ist, zuletzt an dekompenziertem O₂-Mangel. Aber auch die Wiederbelebbbarkeit aus Zone 1 hängt davon ab, daß man die Tiere unter zielbewußter Vermeidung des nachträglich auch ihnen drohenden O₂-Mangeltodes nach dem Vorgehen von LUTZ² ausschleust.

Nach dem Gesagten ist eine Herabsetzung des Risikos einer UK grundsätzlich möglich durch alle Maßnahmen, welche die WR dämpfen bzw. ausschalten. In diesem Sinne bewirken auch die Phenothiazine, ebenso wie die Narkotica (v. WERZ⁴), eine Schließung der „Schere“ oder, m. a. W. eine Vorverlegung der Poikilothermie.

Literatur.

¹ LUTZ, W.: Münch. med. Wschr. 1951, 4. — ² LUTZ, W.: Arch. inn. Med. 1, 4 (1950). — ³ v. WERZ: Arch. exp. Path. u. Pharm. 202, 561 (1943). — ⁴ v. WERZ: Med. Welt 1951, 17.

Freie Diskussion zu Hauptthema I.

WEESE (Wuppertal-Elberfeld): Demonstration von Kurven über den O₂-Verbrauch des Meerschweinchens während Abkühlung bis auf 20° C. Bei den unbehandelten Kontrolltieren stieg der O₂-Verbrauch mit Beginn der Abkühlung (12° C Lufttemperatur) steil auf das 2½fache, um erst bei 26° C wieder den Ausgangswert zu erreichen. Wurden die Tiere mit 20 mg Megaphen/kg sbc. vorbehandelt, so blieb jegliche Stress-Reaktion aus. Der O₂-Verbrauch sank gleichmäßig ab, bei 26° C auf 35% des Ausgangswertes.

Wurden die Tiere mit 100 mg Luminal/kg i. p. vorbehandelt, so fiel die Temperatur in 2 Std um 2° C, der O₂-Verbrauch auf die Hälfte. Auf Abkühlung stieg er wieder steil an auf +10% des Ausgangswertes und fiel erst von 32° C an in gleicher Weise wie im Kontrollversuch ab. Tiere, die zusätzlich noch 10 mg Megaphen

erhalten hatten, zeigten während des ganzen Versuches ein gleichmäßiges Abfallen des O_2 -Verbrauches. Vorher geschädigte Tiere reagierten auf Luminal und auf Abkühlung mit einem geringen Anstieg des O_2 -Verbrauches.

WEESE sieht das Wesen der Megaphenwirkung in einer Senkung der Körpertemperatur und des Stoffwechsels, die auch durch Einwirkung eines Stress (Narkoticum, Kälte) ohne gegenregulatorische Maßnahmen oder toxische Begleiterscheinungen ertragen werden.

R. THAUER (Bad Nauheim-Gießen):

1. „Hibernation“ in dem vom Vortragenden ausgeführten Sinne hat nichts mit Winterschlaf zu tun. Beide Mechanismen sind prinzipiell verschieden.

2. Es liegen keine Beweise für eine *spezifische* Wirkung des Megaphens auf die Wärmeregulation vor.

3. Es liegen ebenfalls keine Beweise für eine echte histoplegische Wirkung vor. Nach Versuchen im Kerckhoff-Institut (BRENDL und KOPPERMANN) sind selbst Narkosen extremer Tiefe nicht in der Lage, den Stoffwechsel unter das Ruhe-Minimum außerhalb der Narkose zu senken.

G. MALORNY (Kiel): Gemäß unserer mikrotonometrischen Gewebsgasanalysen sinkt beim Kaninchen nach 10 mg/kg Megaphen die CO_2 -Spannung nach der 1. Std um 13,4% ab, während p_{O_2} unverändert bleibt. Nach 9 Std ist p_{CO_2} noch um 16,6% erniedrigt. Nach 15–20 Std sind die Gewebsgasverhältnisse wieder normal. Die Verbesserung der Gewebeventilation durch Megaphen wird auf eine Erhöhung des Atemminutenvolumens (Bestimmung nach BEHRENS) und auf eine Senkung des oxydativen Stoffwechsels zurückgeführt. Die gleichen Befunde lassen sich bei der Ratte nach einer Dosis von 20 mg/kg Megaphen erheben.

Von großer praktischer Bedeutung sind diese Megaphenwirkungen für die Anwendung in der Chirurgie. Nach unseren früheren und jetzt erneut bestätigten Befunden kommt es nach Luminal, Morphin, Dolantin u. a. bei höherer Dosierung in den Gewebsgasen zu einer signifikanten Erhöhung des p_{CO_2} bei gleichzeitiger Erniedrigung des p_{O_2} , und damit zu einer Förderung der Acidosebereitschaft. Wir haben hierzu folgende Befunde erheben können:

a) Gleichzeitige Gaben von nichtnarkotischen Morphindosen (10–15 mg/kg bei Kaninchen und Ratten) und nichtnarkotischen Megaphendosen (5–10 mg/kg) führen zwar zum vollen Bild der Narkose, aber zu einem geringgradigeren p_{CO_2} -Anstieg als nach Morphin allein.

b) An 40 Ratten wird der zeitliche Ablauf der Gewebsgasverschiebungen nach 15 mg/kg Morphin i. m. ermittelt. Es zeigt sich, daß der Gipfel der Gewebsgasverschlechterung mit einer Erhöhung des p_{CO_2} um 32% und einer Erniedrigung des p_{O_2} um 20% nach etwa 2 Std erreicht ist, und daß nach 6 Std die Gewebsgasverhältnisse noch nicht normalisiert sind. Injiziert man nun 2 Std nach der Morphingabe 10 mg/kg Megaphen i. m., so beträgt bereits 1 Std später der p_{CO_2} -Anstieg nur noch 9,3% gegenüber dem Ausgangswert und eine weitere Stunde später sind die Ausgangswerte erreicht. Die 6stündige Morphinwirkung, gesehen an den Gewebsgasen, wird also durch Megaphen um 2 Std verkürzt, während die Narkose verstärkt wird. Die atemanregende Wirkung des Megaphens wirkt somit der acidosefördernden CO_2 -Rückstauung entgegen.

Um den Einfluß des Megaphens auf die Unterkühlung zu prüfen, werden Ratten, die Luminal, Urethan oder Megaphen erhalten haben, für 3–5 Std in einen Kühlschrank bei 0–4° C gesetzt.

a) Bei Kontrolltieren sinkt weder die Körpertemperatur, noch treten nennenswerte Änderungen der Gewebsgaszusammensetzung auf.

b) In Luminalnarkose (0,2 g/kg set.) läßt sich bei der Ratte eine Unterkühlung auf 18—25° C ohne Gegenwehr erzielen. p_{CO_2} ist erhöht, p_{O_2} erniedrigt. Es resultiert also eine Verschlechterung der Gewebeventilation. Wiederbelebung durch Erwärmung gelingt nur in Ausnahmefällen.

c) In Urethannarkose (1,1 g/kg set.) stürzt die Körpertemperatur ebenfalls rasch ab. p_{CO_2} und p_{O_2} sind erniedrigt. Wiederbelebung gelingt durch Infusion hypotonischer NaCl-Lösung bei Warmhaltung der Tiere.

d) Nach 20 mg/kg Megaphen i. m. sinkt die Körpertemperatur gleichfalls ohne Gegenwehr auf 23—31° C ab. p_{CO_2} ist um etwa 25% erniedrigt. p_{O_2} liegt in den meisten Fällen ebenfalls deutlich unter dem Ausgangswert (entsprechend der bei der niedrigeren Bluttemperatur verminderten O_2 -Abdissoziation des Hb). Die von Koss geäußerten Bedenken gegen zu starke Unterkühlung in der chirurgischen Praxis bestehen also zu Recht. Wiedererwärmung und Wiederbelebung gelingt praktisch in allen Fällen. Abklingen der Megaphenwirkung nach etwa 20 Std. Der Unterkühlungsablauf nach Urethan und Megaphen zeigt gewisse Ähnlichkeiten.

J. PICHOTKA (Freiburg): Diskussionsbemerkung zum Thema Winterschlaf.

Bei warmblütigen Tieren ist die Erniedrigung der Körpertemperatur auf unternormale Werte mit einer Steigerung des Stoffwechsels verbunden. Diese Beziehung zwischen Körpertemperatur und Stoffwechselgröße ist die Voraussetzung für die Aufrechterhaltung einer konstanten Körpertemperatur. Bei den im Experiment üblichen schnellen Abkühlungen liegt beim Meerschweinchen das Maximum des Stoffwechsels mit etwa dem vierfachen des Grundumsatzwertes zumeist bei einer Rectaltemperatur von 34°. Auch für Hund und Ratte scheint das Maximum bei dieser Temperatur zu liegen. Bis zum Erreichen dieser 34°-Grenze steigt also der Stoffwechsel mit fallender Temperatur, erst nach ihrem Passieren fallen Temperatur und Stoffwechsel gleichsinnig.

Wenn in den Untersuchungen von BÉNITTE und LABORIT die Körpertemperatur fällt, ohne daß eine Steigerung des Stoffwechsels zu beobachten ist, so ist daraus zu schließen, daß der primäre Schritt in diesem Geschehen in der Senkung des Stoffwechsels besteht. Die Körpertemperatur fällt, weil der Stoffwechsel als Folge der Medikation fällt und nicht umgekehrt. Ebensowenig ist aus diesem Verhalten ein Schluß auf eine mögliche Beeinflussung des Temperaturzentrums möglich. Wenn die Stoffwechselgröße unter einen bestimmten Betrag fällt, ist eine geregelte Temperatur nicht möglich, auch wenn das ganze Regelsystem intakt wäre.

Ein der Richtung nach ähnliches Verhalten wie bei der potenzierten Narkose findet sich auch nach der Thyreoidektomie. Bei Meerschweinchen tritt häufig schon bei normalen Umgebungstemperaturen eine Senkung der Rectaltemperatur ein. Während der kontinuierlichen Abkühlung tritt nur im Beginn eine minimale Steigerung des Stoffwechsels ein. Im übrigen findet sich das gleiche Verhalten von Körpertemperatur und Stoffwechselgröße, wie bei der potenzierten Narkose.

SCHNEIDER (Köln): Bei Temperaturerniedrigung nimmt zwar die Überlebenszeit des Gehirns bei kompletter Ischämie exponentiell zu, aber die Wiederbelebungszeit (WBZ), also die Zeit einer kompletten Ischämie, die ohne irreversible Schädigung vertragen wird, steigt nur anfänglich exponentiell an, um nach Durchlaufen eines Maximums bei rund 30° wieder exponentiell abzufallen. Es kommt offenbar zur Interferenz zweier Vorgänge: Die Bedarfssenkung bei Erniedrigung der Temperatur verlängert die WBZ, die Verlangsamung der Erholungsvorgänge dagegen verkürzt sie. Diese Verlangsamung der Erholungsvorgänge beginnt unterhalb 34° merkbar zu werden. Weitere Temperatursenkung kann für das Gehirn, isoliert betrachtet, nicht mehr viel erbringen. Megaphen verkürzt die Wiederbelebungszeit des isolierten Gehirns. Dieser Effekt wird allerdings am Gesamtorganismus durch seine anderen

Wirkungen zum Teil ausgeglichen. Man wird aber in jedem Einzelfall eine genaue Gewinn- und Verlustrechnung aufstellen müssen. Die Annahme, der Kältetod sei auf eine hypoxische Hypoxydose zurückzuführen, muß abgelehnt werden.

PETRY (Freiburg i. Breisgau): Es erscheint mir dringend erforderlich, vom Standpunkt der normalen Anatomie aus Stellung zu den Ausführungen von Herrn LABORIT zu nehmen, soweit sie die Anatomie des „arterio-capillären Systems“ betreffen.

Für den Blutkreislauf, und hier ganz besonders für die Architektur der feineren Blutgefäße, steht die Erforschung der normalen anatomischen Grundlagen erst am Anfang. Eine genaue und systematische Beschreibung der Anatomie des arterio-capillären Systems steht für die meisten Organe noch aus. Dazu kommt, daß wir uns vorläufig außerstande sehen, die sehr aufschlußreichen Befunde von CHAMBERS und ZWEIFACH auf andere Organe und Teile des Körpers zu übertragen. Das beispielsweise für die Vitalbeobachtung der feineren Blutgefäße als ideal zu bezeichnende Kaninchenohr gibt uns doch nur Auskunft über die Verhältnisse am Kaninchenohr selbst.

Das gleiche gilt für die Untersuchungsobjekte der anderen von LABORIT zitierten Autoren. Es handelte sich hierbei um Beobachtungen die am Mesenterium und an der Zunge vom Frosch gemacht wurden. Auch diese Befunde geben uns nur Auskunft über die Verhältnisse am jeweiligen Ort, an dem die betreffenden Beobachtungen stattfanden. Mehr nicht!

Herr LABORIT hat uns ein Schema über die Anatomie des arterio-capillären Systems gezeigt (Abb. 1, 2 und 3). Aus seinen Ausführungen geht hervor, daß er den dort gezeigten Befunden allgemeine Gültigkeit für die Kreislaufperipherie beimißt. Damit stützt er sich bei seinen weiteren Ausführungen im theoretischen Teil seines Vortrages sehr wesentlich auf die von ihm angenommenen morphologischen Besonderheiten. In der Morphologie gilt jedoch der Grundsatz, daß man nur das glauben darf, was man mit eigenen Augen gesehen hat. Wenn wir diesen Grundsatz auf die Anatomie des arterio-capillären Systems anwenden, müssen wir leider feststellen, daß hier eine Verallgemeinerung der nur an ganz bestimmten Orten erhobenen Befunde CHAMBERS und ZWEIFACHS stattgefunden hat, vor der auf das entschiedenste gewarnt werden muß.

Wir können, mit Ausnahme der den zitierten Autoren vorgelegenen Untersuchungsobjekte, an den meisten Organen nur höchst mangelhaft feststellen, ob und wie die Capillargebiete durchblutet sind. Für die unter der Oberfläche liegenden Gebiete ist das überhaupt unmöglich, ohne die normalen Verhältnisse entscheidend zu verändern. Auch die vitale Beobachtung des nach Laparotomie herausgezogenen Mesenteriums ist schon nicht mehr als eine den natürlichen Verhältnissen entsprechende Versuchsbedingung anzusehen.

Die Existenz eines präcapillären Schließmuskels darf niemals verallgemeinert werden. Die funktionelle Struktur dieser Gefäßabschnitte ist noch nicht genügend erschlossen. Auch für die durchaus hypothetische Annahme, daß eine gewisse Regelmäßigkeit im funktionellen Aufbau der arterio-capillären Systeme bestehe, ist die Frage noch offen, ob diese Systeme dann auf irgendwelche Reize gleichwertig reagieren können.

Es bedarf einer zukünftigen intensiven Zusammenarbeit zwischen Pharmacologen, Physiologen und Anatomen, wenn man eine Basis schaffen will, von der aus bindende Schlüsse über funktionelle Änderungen des Kreislaufes gezogen werden können. Form und Funktion sind Begriffe, die untrennbar miteinander verbunden sind. Kennen wir die Form nicht, dann sind wir auch nicht in der Lage, etwas Entscheidendes über die funktionellen Veränderungen auszusagen. Andererseits darf man auch nicht den Fehler begehen, auf Grund einer funktionellen Beobachtung

eine Idealform zu konstruieren, die niemals existiert. Wenn dies trotzdem getan wird, schafft man falsche Voraussetzungen für weitere Untersuchungen ähnlicher Art.

K. DIETMANN (Bonn): Herr THAUER hat soeben dargelegt, daß eine Reduktion des Stoffwechsels nur eine sehr geringe Senkung der Körpertemperatur nach sich zieht. Er hat weiterhin den Vorschlag gemacht, man solle gegebenenfalls einen Patienten in ein Bad von 30° C setzen, um so die Körpertemperatur zu senken. Von praktisch klinischer Seite müssen wir dazu wie folgt Stellung nehmen:

1. Bei einer zwangsweise herbeigeführten künstlichen Hypothermie nach der von LABORIT inaugurierten Technik wird ja bekanntlich dem Kranken von außen Wärme entzogen entweder durch Senkung der umgebenden Lufttemperatur oder durch Auflegen von Eisbeutel. Wenn wir jedoch erst einen schwer Unfallverletzten oder einen Kranken im schwersten Schockzustand, z. B. an einer Magenperforation vor der Operation in ein Bad legen wollten, so ist das wohl schlecht denkbar. Außerdem fordern wir eine Aufrechterhaltung der gesenkten Temperatur auch während und besonders in den ersten 48 Std nach der Operation.

2. Bei der potenzierten Narkose kommt es uns in erster Linie auf die Stoffwechselreduktion und Stabilisation der Stoffwechselvorgänge an, nicht aber primär auf eine Temperatursenkung. GUEDEL hat bereits vor 20 Jahren die Beobachtung gemacht, daß bei stark erhöhtem Grundumsatz eine Allgemeinnarkose nur äußerst erschwert durchzuführen ist. Es ist uns aus diesem Grunde durchaus viel daran gelegen, den Stoffwechsel zu senken und das ist bei einer gezielten und gesteuerten Anwendung von Barbituraten sowie Phenothiazinen in der Prämedikation durchaus möglich.

K. DIETMANN (Bonn): Zu Protokoll gegeben: Herr ZIFF hat in seinem Referat experimentell den Nachweis erbracht, daß die Kombination von Barbituraten und Megaphen an der Maus nicht in allen Fällen zu einer synergistischen Wirkung führt. Nach vorläufigen klinischen Beobachtungen können wir die Beobachtungen von ZIFF bestätigen: Die gleichzeitige Injektion von Evipan und Megaphen führt keineswegs zu einer Einsparung von Evipan. Im Gegenteil haben wir häufig bei normalen Evipanmengen Unruhezustände beobachtet und wir mußten verschiedentlich die Einschlafdosierung für Evipan um fast das Doppelte erhöhen. Anders verhält sich die gegenseitige Wirkung, wenn das Megaphen 2—3 Std vor Einleitung der Narkose mit Evipan verabreicht wurde. In diesem Falle konnte eine deutliche Ersparnis an Evipan festgestellt werden, das gleiche beobachteten wir bei der gemeinsamen Medikation von Luminal und Megaphen. Hier kommt es ebenfalls zu einer Wirkungssteigerung des Luminals, die offenbar durch die langsame Anflutung des Luminals im Zentrum bedingt ist. Wir beabsichtigen die experimentellen Ergebnisse von ZIFF mit der gleichen Methodik klinisch beim Menschen nachzuprüfen.

C. SCHMIDT (Bonn): Gemeinsam mit MATIAR habe ich den *Einfluß der Hibernisation auf die Serumproteinveränderungen nach Hirnoperationen* untersucht. Es handelt sich um elektrophoretische Serumproteinbestimmungen mit dem ANTWEILERSchen Gerät an Patienten der Neurochirurgischen Abteilung von Prof. RÖTTGEN, Bonn.

Ein Vergleich der Eiweißveränderungen nach Hirnoperationen mit und ohne Hibernisation, dargestellt an Mittelwertkurven zweier Gruppen von 8 bzw. 12 Fällen, ergibt folgendes Bild: Das Gesamteiweiß fällt nach Hibernisation nur unwesentlich (um 0,5 g%) ab. Im Vergleichsmaterial betrug der Abfall im Durchschnitt 1,5 g%. Nach Hibernisation wird der Ausgangswert schon am 8. Tag post op. erreicht, bei den Vergleichsfällen erst am 27. Tag. Die bemerkenswertesten

Veränderungen betreffen das Albumin und das Alpha-Globulin. Bei den nichthibernisierten Fällen sank das Albumin bis zum 9. Tag von 52,8% auf 40,6%, erst nach 27 Tagen waren die Ausgangswerte annähernd erreicht. Unter der Hibernisation liegt der Tiefpunkt der Kurve schon am 7. Tag, auch er ist geringer. Am 11. Tag sind die Ausgangswerte annähernd erreicht. Besonders bemerkenswert war bei Hibernisation ein Anstieg des Albumins am 1. Tag post op. von 52,8 auf 55,4%. Der Abfall setzt um einen Tag später ein. Das Alpha-Globulin steigt in beiden Untersuchungsreihen stark an. Bei den Nichthibernisierten erfolgt der Anstieg sofort nach der Operation, bei den Hibernisierten erst nach dem ersten Tag. Auch hier ist der Anstieg verzögert und geringer. Nach 11 Tagen sind die Ausgangswerte annähernd

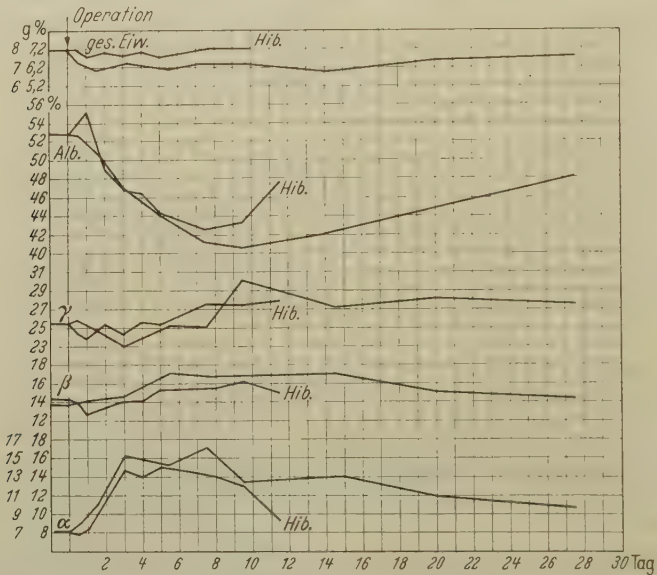


Abb. 1. Vergleichskurve des Gesamteiweißes und der relativen Fraktionswerte (die vorderen Zahlen gelten für die nichthibernierten, die Zahlen hinter dem Strich für die hibernierten Fälle).

erreicht, bei den Vergleichsfällen nach 27 Tagen noch nicht im selben Maße. Bei Beta- und Gamma-Globulin finden wir ebenfalls Abweichungen, die sich in Kürze nicht charakterisieren lassen. Bei Hibernisierten verläuft auch hier die Reaktion geringgradiger als in den Vergleichsfällen. Das bedeutet, daß unter der Hibernisation die maladie postopératoire weniger heftig und rascher abläuft. Durch den Anstieg des Albumins ergibt sich eine günstigere Ausgangslage. Bei Dysproteinämie mit starker Albuminverminderung und Alphaerhöhung waren nämlich bei Nichthibernisierten die postoperativen Verläufe ungünstiger als bei normalen Ausgangsverhältnissen. [Gemeinsam mit MATIAR und GEINERT: Dtsch. Z. Nervenhk. (im Druck)].

Zur Erklärung wird man Permeabilitätsänderungen im Capillarbereich heranziehen, die ja für das Kollapsproblem im Zusammenhang mit dem kolloidosmotischen Druck von Bedeutung sind. Der Anstieg des Alpha-Globulins und auch die Veränderungen der anderen Fraktionen hängen aber mit der Transportfunktion des Serumproteins zusammen, die noch weiterer Untersuchung bedarf. An den Albuminbewegungen unter der Hibernisation kann man gewissermaßen ablesen, wie der postoperative Schock hintangehalten wird.

BERENDT (Möln): Unter potenziierter Narkose traten EKG-Veränderungen mit Senkung der ST-Strecke und der T-Strecke auf. Außerdem wurden zum Teil erhebliche, parenchymatöse Nachblutungen gesehen. Tödliche toxische Überempfindlichkeitsreaktionen (Schleimhautblutungen) scheinen in Einzelfällen möglich zu sein.

WILLEMS (Köln): Im Laufe der vergangenen 14 Monate unterzogen wir das Megaphen einer eingehenden klinischen Überprüfung. Es war uns besonders daran gelegen, die pharmakologische Wirksamkeit des Mittels allein — also ohne die üblichen vielfältigen Zutaten der potenzierten Narkose mit ihren verschiedenen Angriffspunkten — festzulegen. Da wir andernorts in größerem Umfange darüber berichten werden, können wir uns jetzt auf eine summarische Zusammenfassung der erlangten Ergebnisse beschränken. Uns interessierte vor allem der stoffwechsel-senkende, sauerstoffsparende Effekt, der dem Megaphen nachgesagt wird. Wir können hier im wesentlichen auf die gestrigen Ausführungen von Herrn Prof. GROSSE-BROCKHOFF verweisen. Wie er, so fanden auch wir, bei völlig übereinstimmender Versuchsanordnung weder bei normalen Probanden noch bei Thyreo-toxikosen eine Senkung des Ruhe-Nüchternumsatzes, selbst nicht nach maximaler Dosierung. Analog dem schlugen Erprobungen an Kranken mit chronischer pulmonaler Ateminsuffizienz infolge hochgradigen Lungenemphysems sowie bei chronischer Herzinsuffizienz völlig fehl. In jedem Falle kam es spätestens am 3. Tage der Medikation zu einer derartigen Verschlechterung des klinischen Zustandsbildes, daß eine weitere Applikation des Mittels nicht mehr zu verantworten gewesen wäre. Es ist selbstverständlich, daß wir auf Grund dieser Erfahrungen von dem ursprünglichen Vorhaben, Megaphen bei Herz- und Lungeninfarkten zu geben, Abstand nahmen. Bemerkenswert war bei dieser Versuchsreihe des weiteren, daß die bei der kombinierten Therapie verschiedener Phenothiazine und Barbiturate beobachtete Desinteressiertheit der Kranken bei Megaphen allein nicht nachweisbar war: Alle Patienten verlangten kategorisch am 3. Tag das Aussetzen der Megaphen-Medikation.

Ebensowenig konnten wir mit dem Mittel allein — bei laufender thermoelektrischer Kontrolle — eine Hypothermie erzielen.

Die von uns gefundenen Wirkungen lassen sich unter anderem durchaus auf einen gemeinsamen Nenner bringen: Unter Megaphen kommt es zu einer individuell verschiedengradigen Labilität vegetativer Regulationen, wobei wir vorerst dahingestellt sein lassen, ob neben einem zentralen Angriffspunkt noch ein peripherer vorhanden ist. Diese Labilität äußert sich am Ruhenden lediglich in einer Änderung der Schlaf-Wachfunktion. Sie tritt hingegen deutlich zutage, wenn der unter Megaphen stehende Proband irgendwelchen Belastungen ausgesetzt wird:

1. Kreislaufmäßig sahen wir sehr hochgradige orthostatische Regulationsstörungen, die in der Mehrzahl bis zum orthostatischen Kollaps führten. Dabei verhielt sich der Blutdruck ähnlich wie bei der hypodynamen Regulationsstörung SCHELLONGS: Es kam zu einem excessiven Abfall der systolischen und diastolischen Ausgangswerte unter gleichzeitig einsetzender Tachykardie.

2. Die Labilität der Wärmeregulation äußerte sich bei exogenen Temperaturänderungen in einer das übliche Maß überschreitenden Hypothermie bei Kältezufuhr und einer Hyperthermie bei Wärmezufuhr.

3. Die Labilität der den Blutzuckerspiegel regulierenden Mechanismen zeigte sich — nicht ganz so konstant — bei Insulin- bzw. Traubenzuckerbelastungen in überschießenden hypo- bzw. hyperglykämischen Reaktionen.

4. Eine bereits vorbestehende vegetative Labilität (z. B. paroxysmale Tachykardien bei jugendlichen herzgesunden Patienten) wurde in der überwiegenden Mehrzahl verstärkt.

5. Weniger durchsichtig war eine neutrophile Leukocytose (um etwa $\frac{1}{3}$ des Ausgangswertes), die wir konstant im akuten Versuch beobachten konnten, bei längerer Darreichung aber nicht mehr nachweisbar war.

Aus diesen Untersuchungen geht eindeutig eine im Einzelfall quantitativ verschiedene, durch Megaphen provozierte Labilität vegetativer Regulationen hervor, von deren Nutzen für die interne Klinik wir uns nicht überzeugen konnten.

Es wäre interessant von den französischen Autoren zu erfahren, welche Befunde sie bei alleiniger Anwendung des Megaphens in der Klinik und im Tierversuch erhoben haben.

STROHMAYER (Bremen): 1. Megaphen allein erhöht die Blutungsbereitschaft. Regelmäßige Antithrombinzeitbestimmungen haben uns bewiesen, daß auch die Blutgerinnungsfähigkeit herabgesetzt ist.

2. Bei den im „coctail lytique“-Schlaf operierten Patienten traten in demselben Verhältnis wie bei den in Lokalanästhesie operierten Patienten Pneumonien auf. Wir haben durch die Methode an unserem neurochirurgischen Krankengut in der Richtung keine Änderung gegenüber früher gesehen.

3. Megaphen allein und „coctail lytique“ können bei Schädel-Gehirnverletzungen außerordentlich günstige Wirkungen auf den Verlauf des Krankheitsgeschehens haben. Es ist uns in einem Fall von schwerem posttraumatisches KORSAKOW-Syndrom — das auswärts vergeblich behandelt worden war —, gelungen, durch mehrtägigen tiefen Schlaf das Syndrom zu beseitigen und völlige Ausheilung herbeizuführen.

AEBERT (Bremen): 1. Es bleibt zu klären, ob in der Hibernation nicht die Immunisierungsvorgänge gleichfalls mitgestört werden, so daß sich Pneumonien leichter entwickeln können!

2. Die Sauerstoffschere und die erhöhte Belastung bei der Ausschleusung werden gemindert durch Sauerstoffgaben, passive Wärmezufuhr. Außerdem wird eine Stützung des eben in Gang kommenden Stoffwechsels durch Gaben von Cortison erwogen.

V. WERZ (München): Vom Standpunkt der O_2 -Mangeltheorie der Unterkühlung ist es nicht zu verantworten, daß die Patienten nach dem Abklingen der neurophysiologischen Wirkung sich selbst überlassen und damit der anfangs vermiedenen „Sauerstoffschere“ zuletzt doch noch ausgeliefert werden: Solange Untertemperatur besteht, kann ja die calorische Schuld („debt“) notwendig nur durch aktive Wärmeregulation des Patienten zurückbezahlt werden, ob man nun makroskopisch „Zittern“ (und Frösteln) sieht oder nicht.

Daraus ergibt sich die dringende (vitale) Indikation nach rascher und energischer, passiver Wiedererwärmung, womöglich schon vor dem Abklingen der „blockierenden“ Wirkung. Das jetzt noch allgemein geübte „ausschleichende“ Vorgehen beruht dagegen auf einem frommen Selbstbetrug.

KOSS (Düsseldorf): Ich habe lediglich zu den Bemerkungen von Herrn BERENDT, Herrn WILLEMS und Herrn STROHMAYER noch folgendes zu sagen:

Die von Herrn BERENDT beschriebene Senkung der S.T.-Strecke im EKG. ist ein Zeichen eines Sauerstoffmangelschadens des Herzens. Daß dieser Sauerstoffmangelschaden nach Pneumolysen-Operationen festgestellt wurde, ist wohl kein Zufall, denn, wenn die Lunge soweit gelöst wird, daß sie für die Atmung ganz ausfällt und eventuell noch der Caverneninhalt in die andere Seite gepreßt wird, dann kann man nicht erwarten, daß die potenzierte Narkose solche Atmungsschwierigkeiten vermeidet. Auch die erwählten Nachblutungen in die Pneumolysenhöhlen dürfte durch die Behinderung der Atmung mit Kohlensäure-Akkumulation und

nachfolgendem Blutdruckanstieg bedingt sein. Wir selbst haben eine Blutungsneigung nach der potenzierten Narkose nie beobachten können.

Auf den Vortrag von Herrn WILLEMS einzugehen, erübrigt sich, denn es wird in der Literatur immer wieder betont, daß mit Megaphen allein keine ausreichende vegetative Blockade zu erreichen ist.

Wenn Herr STROHMAYER bei der Unterkühlung die Patienten so stark dämpft, daß sie spontan nicht mehr abhusten und auch auf Aufforderung zu husten nicht reagieren, dann muß das Bronchialsystem zur Verhinderung von Pneumonien abgesaugt werden, notfalls unter Zuhilfenahme eines Bronchoskops.

Schlußwort LABORIT. Herrn GROSSE-BROCKHOFF entgegne ich, daß seine Beobachtungen, nach denen Megaphen nicht in der Lage gewesen sein soll, bei normalen Personen und bei Hyperthyreosen eine Schilddrüsen-Hypofunktion zu erzielen, nicht mit den Ergebnissen, die DUCUING und RIEUNAU-SERRA¹ mit der lytischen Kombination beim Menschen erzielen konnten und auch nicht mit den Versuchsergebnissen von BOBBIO (Parma), JENTZER (Genf), CASTAIGNE (Toulouse), CAHN, MELON und DUBRASQUET (Paris) übereinstimmen. Möglicherweise ist die Wirkung des Megaphens allein zur Erzielung einer derartigen Hypofunktion nicht ausreichend. Es ist aber seit langem bekannt, daß ein naher Verwandter des Megaphens, das Diparcol, diese Fähigkeit aufweist (MALRAUX u. KOWALEWSKI²).

Es ist nach unserer Ansicht kaum zu verstehen, daß eine Herabsetzung der Stoffwechselvorgänge nicht auch mit einem Temperaturrückgang einhergehen soll, wenn alle anderen Bedingungen die gleichen bleiben. Es wäre also wohl illusorisch, feststellen zu wollen, was das *primum movens* ist, Temperaturrückgang oder Herabsetzung des Stoffwechsels, weil ja jeder Temperaturrückgang am Homöothermen, sofern er nicht durch eine Herabsetzung des Stoffwechsels ausgelöst wird, im Gegenteil mit einer Steigerung der Stoffwechselvorgänge einhergeht. Bei unserer Methode ist es tatsächlich so, daß der Temperaturrückgang erheblich erleichtert ist, weil der Hund geschoren ist und die Vasoplegie einem Wärmeverlust in der Peripherie Vorschub leistet. Diese Thermolyse geht aber allmählich vor sich und wirkt nicht als Stress wie eine Unterkühlung von außen.

Auf den Einwand von GROSSE-BROCKHOFF, der sich mit dem von SCHNEIDER in etwa deckt, daß nämlich kaum zu verstehen sei, daß der Rückgang der Stoffwechseltätigkeit ruhender Zellen nicht zu Zellschädigungen führen soll, erwidere ich mit dem Hinweis auf die Tierversuche von C. JAULMES und DELGA bei Kaliumcyanid-Vergiftungen des Hundes: Die hibernisierten Tiere bleiben bedeutend länger am Leben als die Kontrolltiere. Es ist kaum denkbar, daß eine durch die Hibernisation geschädigte Zelle gegenüber Kaliumcyanid widerstandsfähiger sein soll, als die intakte Zelle des Kontrolltieres. Wir sind vielmehr der Auffassung, daß die Zelle, deren Stoffwechsel reduziert ist, dem Gift gegenüber weniger empfindlich ist. Zur Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels haben wir zu sagen, daß sie wohl nicht von vornherein als total anzunehmen ist, sondern daß sie in verschiedener Intensität auftritt und daß sie eine Gefahr für den Organismus als Ganzes, weniger aber für die Einzelzelle ist.

Was die Herzchirurgie bei blutleerem Herzen anbelangt, so ist unsere Methode mit der von GROSSE-BROCKHOFF angeführten (JUVENELLE usw.) wohl nicht zu vergleichen. Zum Beweis verweisen wir auf folgende Befunde: Wir haben bisher bei 20 hibernisierten und mit Hypophysen-Somatotropin behandelten Tieren den Kreislauf für 15–21 min stilllegen können, ohne daß es zu Kammerflimmern kam. Wir ließen die Tiere sich wieder erwärmen, indem wir die Thermolyse verhinderten

¹ DUCUING u. RIEUNAU-SERRA: *Ac. de Ch* **13**, 5 (1953).

² MALRAUX u. KOWALEWSKI: *Arch. internat. Pharmacol.* **80**, 464 (1949).

und die pharmakodynamische Blockade lösten. Eine auf diese Weise durchgeführte Wiedererwärmung hat offensichtlich zu keinerlei wesentlichen postoperativen Komplikationen geführt. Dagegen gingen alle Tiere, die aktiv wiedererwärmt wurden, in kurzer Zeit ein.

Wir sind, ebenso wie GROSSE-BROCKHOFF, davon überzeugt, daß die unterkühlte Zelle eine geringe Erregbarkeit besitzt. CORABEUF hat unlängst nachgewiesen, daß Kälte das Wirkungspotential der isolierten Zelle senkt, ihr Ruhepotential aber unverändert läßt. Man sollte die Wirkung der Hibernisationsstoffe durch intracellulär eingeführte Elektroden analysieren. Wir würden uns nicht wundern, wenn diese Mittel auf die Einzelzelle dieselbe Wirkung ausüben wie die Kälte.

So stellte PERUZZO (Parma) mit Erstaunen fest, daß ein Gehirnschnitt bei 30° immer den gleichen Sauerstoffverbrauch hat, gleichgültig, ob er in einer Megaphenlösung oder einer megaphenfreien Lösung untersucht wurde.

Herrn WILMS habe ich zu antworten, daß alle Ärzte, die Megaphen benutzt haben, auf die orthostatische Wirkung des Produktes hinweisen, die ja auch von anderen Ganglioplegica her bekannt ist. Wie DELEY und DENIKER nachweisen konnten, verschwindet diese Wirkung nach mehrtägiger Anwendung. Es genügt, diese Wirkung zu kennen, um sich gegen sie zu schützen.

Die Labilität der Wärmeregulation ist schon vor längerer Zeit von C. JAULMES an der Ratte nachgewiesen worden. Auf Grund dieser Tatsache muß man klinisch mit einer zu intensiven Wiedererwärmung rechnen. Wir haben einige klinische Fälle erlebt.

Auf die Leukocytose, die WILMS erwähnt, haben wir schon in mehreren Arbeiten hingewiesen.

Trotzdem hat das Megaphen, das in kurzer Zeit weite Anwendung gefunden hat, bei den anderen Medizinern nicht den gleichen Pessimismus erweckt wie bei Herrn WILMS. Belgische und französische Veröffentlichungen berichten über Erfolge der Hibernisation bei Myokard-Infarkt (Prof. LIAN). Es ist mir persönlich gelungen, einen bereits im Sterben liegenden Patienten mit akuter Erweiterung des rechten Herzens durch Hibernisation zu heilen.

Herrn VON AEBERT habe ich zu antworten, daß seit der Einführung der Neuroplegica Lungenkomplikationen in der Chirurgie viel seltener vorkommen. In unseren Statistiken tauchen derartige Komplikationen kaum noch auf. Durch die Hibernisation ist es gelungen, gewisse Bronchopneumonien in hoffnungslosem Zustand mit vollständiger Anoxie erfolgreich zu behandeln.

Herrn VON PETRY muß ich antworten, daß ich nicht genügend Histologe bin, um ihm ganz folgen zu können. Er hat ohne Zweifel insofern recht, als das, was für das Kaninchenohr zutrifft, nicht unbedingt auch für den Menschen Gültigkeit haben muß. Ich möchte aber an Herrn VON PETRY die Frage richten, ob das, was er an toten Schnitten beobachtet, auch für den dynamischen, physiologisch-biologischen Zustand des lebenden Organismus seine Gültigkeit behält. Kann Herr VON PETRY mit Sicherheit sagen, daß die fixierten Schnitte, die er mit seinen Augen betrachtet, Schlüsse auf die Lebensvorgänge zuläßt. Vielleicht wird man einmal feststellen, daß die Arteriolen-Capillaren-Systeme des Wurmfortsatzes, der Brustdrüse oder der Prostata wirklich verschieden sind. Demgegenüber können wir uns wohl eher erlauben, die Beobachtungen, die CHAMBERS und ZWEIFACH mit dem Mikrokinematographen an in situ lebenden Därmen, Nieren, Lungen, Magen, Muskeln usw. gemacht haben, auch auf die übrigen Organe zu übertragen. Eine grundsätzliche Verallgemeinerung wäre zwar verfrüht. Dennoch geben Analogieschlüsse aus diesen Beobachtungen eine zwanglosere Erklärung als alle bisherigen Hypothesen. Zudem haben sie uns zu einer unstreitbaren wirksamen Therapie verholfen und eine folgerichtige Erklärung ihrer physiologisch-pathologischen Vorgänge ermöglicht.

Hauptthema II.

Blutgerinnung.

F. KOLLER (Zürich): Die Physiologie der Blutgerinnung, ihre Bedeutung für die Klinik.

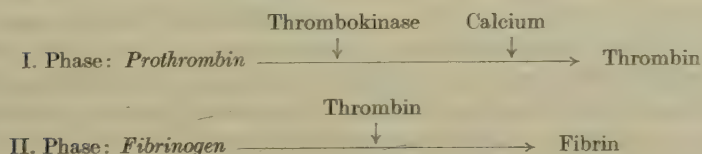
Mit 12 Textabbildungen.

Wir verdanken die Grundzüge der auch heute noch gültigen Gerinnungslehre den Physiologen, unter denen ich ALEXANDER SCHMIDT-Dorpat, HAMMARSTEN-Stockholm und meinen Lehrer ARTHUR-Lausanne besonders erwähnen möchte. Neben den Physiologen, welche durch sinnvolle, selbst erdachte Experimente dem Geheimnis des Gerinnungsvorgangs näher zu kommen suchten, haben aber schon frühzeitig auch Kliniker Beiträge zur Gerinnungslehre geleistet, dadurch, daß sie Experimente der Natur analysierten und zu deuten versuchten. Als derartige Naturexperimente können die hämorrhagischen Diathesen betrachtet werden, die zum Teil auf dem Mangel eines normalerweise vorhandenen Gerinnungsfaktors beruhen. Die Analyse der verschiedenen Formen hämorrhagischer Diathesen hat eine Vielheit von Gerinnungsfaktoren erkennen lassen, die nach den physiologischen Experimenten *allein* niemals vermutet worden wäre.

Es ist auch ein Kliniker gewesen — MORAWITZ —, der vor 50 Jahren die Resultate der eingangs erwähnten Gerinnungsforscher zusammenfaßte und damit die moderne Gerinnungslehre begründete.

MORAWITZ^{14a} hat zwar später an der Richtigkeit dieser Lehre selbst gezweifelt — so stark war in den zwanziger Jahren der Einfluß der Kolloidchemie — und es bedurfte jahrelanger, mit bewundernswerter Kritik und Folgerichtigkeit durchgeführter Untersuchungen von WÖHLISCH²⁴ um die Haltlosigkeit der kolloidchemischen Betrachtungsweise einwandfrei nachzuweisen und die ursprüngliche MORAWITZsche Lehre voll und ganz zu bestätigen. Von dieser hat unseres Erachtens auch heute noch eine Darstellung des Gerinnungsvorganges auszugehen:

Klassisches Gerinnungsschema:



Nach diesem Schema erfolgt die Gerinnung in 2 Phasen: in einer ersten wird das Prothrombin in Thrombin übergeführt unter der katalysierenden Wirkung der Thrombokinasen und des Calciums und in einer

zweiten Phase erfolgt die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin unter dem Einfluß des Thrombins, welches dabei als eigentliches Ferment wirkt.

Nach dieser Lehre sind somit 4 obligate Gerinnungsfaktoren vorhanden: Fibrinogen, Prothrombin, Thrombokinese und Calcium, während Thrombin und Fibrin bereits Umwandlungsprodukte der erwähnten Faktoren darstellen.

Auf Grund dieses Schemas hat QUICK^{18, 19} im Jahre 1935 seine Prothrombinbestimmungsmethode aufgebaut, die dank ihrer Einfachheit eine enorme Verbreitung gefunden hat. Die Methode ist in den

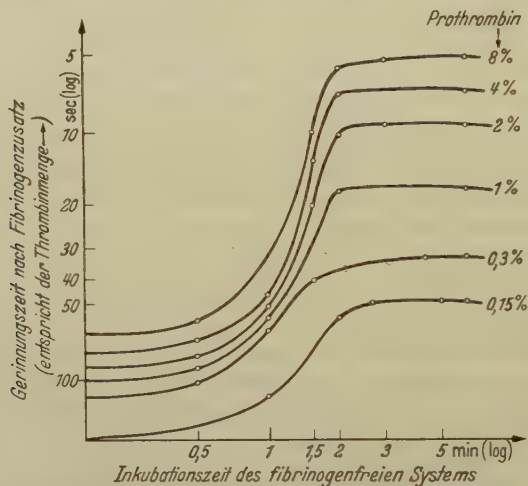


Abb. 1. Einfluß von steigenden Prothrombinkonzentrationen auf die Thrombinbildung. Die gebildete Thrombinmenge nimmt parallel der Prothrombinkonzentration am Anfang des Versuches zu. (Faktor VII und Faktor V konstant.)

letzten Jahren einer scharfen Kritik unterzogen worden; niemand wird ihr aber ihre entscheidende Bedeutung für die weitere Entwicklung der Gerinnungsphysiologie absprechen können.

Es handelt sich um eine *Einstufenmethode*, d. h. die beiden Phasen des Gerinnungsvorganges laufen zeitlich nicht getrennt ab: nachdem sich eine geringe Menge Thrombin einmal gebildet hat, erfolgt sogleich die Überführung des Fibrinogens in Fibrin, während gleichzeitig die Prothrombinumwandlung noch weiter vor sich geht. Das *Prinzip* der Einstufenmethoden, das sich als sehr fruchtbar erwiesen hat, ist folgendes: *Alle Faktoren mit Ausnahme des zu bestimmenden werden konstant gehalten. Unter diesen Umständen sind Änderungen der Gerinnungszeit notwendigerweise auf Schwankungen der Aktivität (bzw. Konzentration) des einzigen variablen Faktors zurückzuführen.* Bei der Bestimmung des Prothrombins müssen infolgedessen auf Grund des obigen Schemas die

übrigen 3 Faktoren: Thrombokinas, Calcium und Fibrinogen konstant gehalten werden. QUICK hat die Konstanz der Thrombokinas durch Zugabe eines Überschusses von Gehirntrockenpulver (äußerst aktive Gewebsthrombokinas), diejenige des Calciums durch Recalcifizierung des Oxalatplasmas mit Mol/40 CaCl_2 -Lösung gewährleistet. Auf die Konstanthaltung des Fibrinogens hat er bewußt verzichtet, weil damit die Methode wesentlich komplizierter geworden wäre und weil Änderungen der Fibrinogenkonzentration, welche die Gerinnungszeit beeinflussen, recht selten vorkommen.

Mit Hilfe dieser Methode konnten gewisse Störungen der Blutgerinnung sehr viel exakter festgestellt werden als bisher. Es entspricht einer

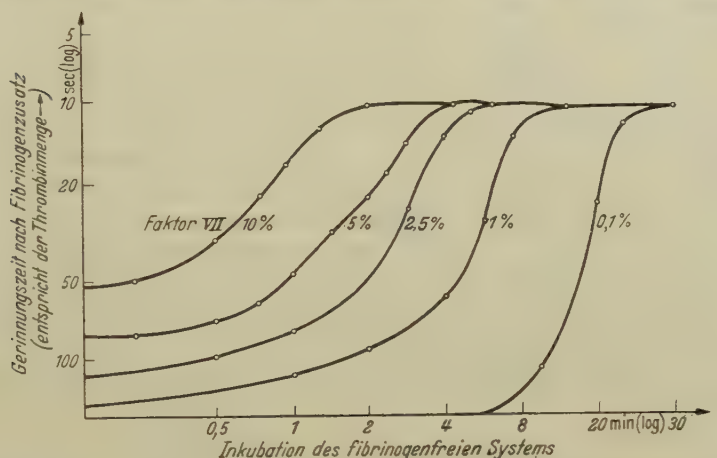


Abb. 2. Einfluß von steigenden Faktor VII-Konzentrationen auf die Thrombinbildung. Faktor VII wirkt als Accelerator. (Faktor V und Prothrombin konstant.)

alten Erfahrung, daß die Präzision der Gerinnungszeitbestimmung um so größer wird, je kürzer die Gerinnungszeit ist. Durch die Einführung der *Gehirnthrombokinas* in das Gerinnungssystem wurden die Gerinnungszeiten von *Minuten* auf *Sekunden* reduziert. Während nach der Methode von BÜRKE oder LEE-WHITE etwa 5 min, nach FONIO sogar 20 min als normal gelten können, erhält man mit der QUICKschen Methode normalerweise eine Gerinnungszeit von 11 sec. Dabei ist die Fehlergrenze nicht größer als $\frac{1}{2}$ sec. Die Gerinnungsforschung erhielt damit einen wesentlich höheren Grad von Präzision.

1947 beschrieb OWREN¹⁶ eine hämorrhagische Diathese bei einer Frau, die seit Kindheit bestanden hatte. Die QUICKsche Einstufenmethode ergab eine stark verminderte Aktivität des „Prothrombins“. Auffallenderweise wurde aber mit der Zweistufenmethode ein beinahe normaler Prothrombingehalt (88% der Norm) bestimmt. OWREN nahm

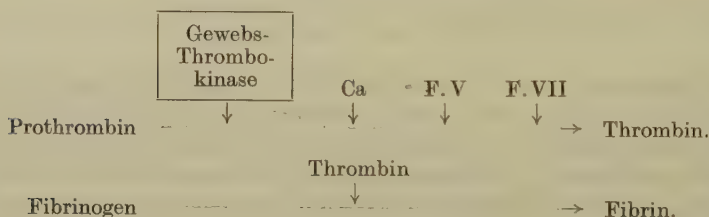
daher an, daß in diesem Fall nicht das Prothrombin, sondern ein bisher unbekannter Gerinnungsfaktor fehlte. Da bis dahin nur 4 obligate Gerinnungsfaktoren bekannt waren, nannte er ihn *Faktor V*. Derselbe ist wohl sicher identisch mit dem Thrombogen von NOLF (1908), dem „labile factor“ von QUICK²⁰, dem Accelerator-Globulin von WARE u. SEEGER²³ und dem Prothrombin-Accelerator von FANTL u. NANCE^{8a}.

Verschiedene Beobachtungen (ALEXANDER u. Mitarb.², OWREN¹⁷, eigene Untersuchungen¹¹) wiesen darauf hin, daß auch das nach Abtrennung des Faktors V übrigbleibende „Prothrombin“ noch keinen einheitlichen Faktor darstellt, sondern nochmals in 2 Komponenten aufgeteilt werden muß, von denen die eine — analog dem Faktor V — die Umwandlung des Prothrombins in Thrombin beschleunigt, während die andere das eigentliche Prothrombin darstellt.

In Untersuchungen, die wir gemeinsam mit LOELIGER u. DUCKERT durchgeführt haben^{11, 12}, konnten die Funktionen der beiden Komponenten erstmals eindeutig klargestellt werden. Das eigentliche Prothrombin, definitionsgemäß die Vorstufe des Thrombins, bestimmt die *Menge* des schlußendlich gebildeten Thrombins, ohne die *Geschwindigkeit* dieser Bildung zu beeinflussen. Je mehr Prothrombin sich im Gerinnungssystem befindet, um so mehr Thrombin wird daraus hervorgehen. Im Gegensatz dazu beeinflusst die zweite Komponente, für die wir die Bezeichnung *Faktor VII** vorgeschlagen haben, lediglich die *Geschwindigkeit* der Thrombinbildung (Abb. 1 u. 2).

Das Gerinnungsschema mußte daher in folgender Weise ergänzt werden:

Gerinnung mit Gewebs-Thrombokinase.



Der Faktor VII ist klinisch von besonderem Interesse, da er unter pathologischen Verhältnissen im allgemeinen rascher und stärker reagiert als die übrigen Gerinnungsfaktoren: bei der K-Avitaminose (z. B. Verschlußikterus) ist er stärker gesenkt als das Prothrombin, nach Verabreichung von Vitamin K steigt er rascher an als letzteres. Dicumarol

* Die an sich richtigere Benennung „Faktor VI“ für diesen Accelerator war deswegen nicht möglich, weil dieselbe von OWREN bereits für ein hypothetisches Umwandlungsprodukt des Faktor V reserviert worden war.

und seine Derivate verursachen in erster Linie einen Abfall des Faktors VII und erst in zweiter Linie eine Abnahme des Prothrombins, welches selten so tiefe Werte erreicht wie der Faktor VII (Abb. 3).

Auch bei gewissen physiologischen Zuständen zeigt dieser starke Ausschläge: Am Ende der Schwangerschaft ist seine Konzentration regelmäßig erhöht, oft auf über das Doppelte der Norm, während beim Neugeborenen nur etwa $\frac{1}{4}$ der beim Erwachsenen normalen Aktivität feststellbar ist.

Mit dem Nachweis des Faktors VII war die Entwicklung desjenigen Zweiges der Gerinnungsphysiologie, die auf der QUICKSchen Einstufenmethode basierte, zu einem gewissen Abschluß gekommen.

Es handelte sich nunmehr noch darum, die gerinnungsphysiologisch einwandfrei nachgewiesenen Faktoren auch physikalisch-chemisch zu charakterisieren und voneinander zu trennen. Die Mithilfe der Chemie ist gerade auf diesem Gebiet außerordentlich wertvoll, bietet sie doch die beste Gewähr gegen das Überborden der Spekulation, die sich die Gerinnungsphysiologie zu ihrem eigentlichen Tummelplatz auserwählt zu haben scheint.

Bei sämtlichen bisher erwähnten Gerinnungsfaktoren — mit Ausnahme des Calciums — handelt es sich um Eiweißkörper. Eine Reindarstellung, d. h. die Eliminierung anderer Gerinnungsfaktoren, ist bisher am ehesten beim Prothrombin gelungen (DUCKERT u. Mitarb.⁷⁾).

Die erheblichen Schwierigkeiten, welche sich einer Trennung von Prothrombin und Faktor VII entgegenstellten, konnten überwunden werden (Abb. 4). Dagegen war es bisher nicht

möglich, das in wesentlich höheren Konzentrationen im Plasma vorhandene Fibrinogen frei von anderen Gerinnungsfaktoren (insbesondere von antihämophilem Globulin) darzustellen.

Die QUICKSche Einstufenmethode hatte während der soeben geschilderten Entwicklung, zu der sie selbst Anlaß gegeben hatte, ihre

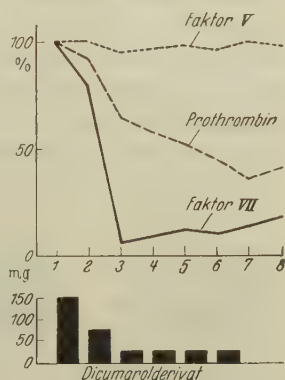


Abb. 3. Wirkung eines Dicumarolderivates auf die Konzentration von Faktor V, Faktor VII und Prothrombin.

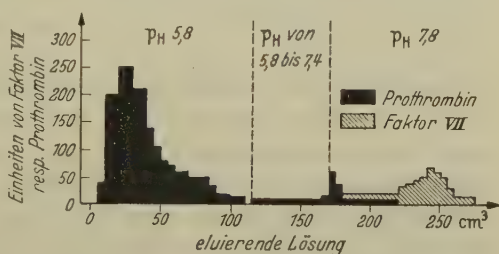


Abb. 4. Chromatographische Trennung von Prothrombin und Faktor VII. Eluierende Lösungen: 1. Trinitriumcitrat-Citronensäure 0,14 molar, pH 5,8. 2. Trinitriumcitrat 0,14 molar, pH 7,8.

ursprünglich postulierte Spezifität völlig eingebüßt. Es konnte keine Rede mehr davon sein, daß mit dieser Methode in spezifischer Weise das Prothrombin erfaßt werde.

Wie bereits erwähnt, werden nach QUICK nur 2 Gerinnungsfaktoren konstant gehalten: Thrombokinese und Calcium. Da jedoch mit 6 Faktoren gerechnet werden muß*, so können alle übrigen 4 Faktoren: Fibrinogen, Prothrombin, Faktor V und Faktor VII das Resultat der QUICKschen Methode beeinflussen (Abb. 5). Wenn wir mit Hilfe der Einstufenmethode wirklich einen einzelnen Faktor quantitativ bestimmen wollen, so müssen alle übrigen 5 Faktoren konstant gehalten werden.

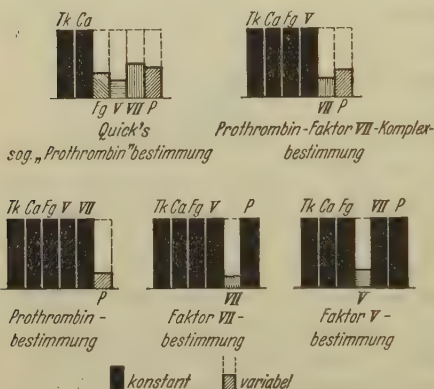


Abb. 5. Prinzip der Einstufenmethode: Sämtliche Faktoren mit Ausnahme des zu bestimmenden Faktors werden im Gerinnungssystem konstant gehalten.

Dies ist für die Faktor VII-Bestimmung z. B. auf diese Weise möglich, daß durch Seitzfiltration (oder BaSO_4 -Adsorption) der Faktor VII aus Rinderplasma entfernt wird, während alle übrigen Faktoren (wenigstens größtenteils) zurückbleiben. Gibt man dieses Faktor VII-freie Plasma zu dem zu untersuchenden Plasma zu, so muß eine Verzögerung der Gerinnungszeit notwendigerweise auf einer Abnahme des Faktors VII beruhen.

Auf analoge Art können durch einfache klinische Methoden auch die anderen Gerinnungsfaktoren bestimmt werden (Abb. 5).

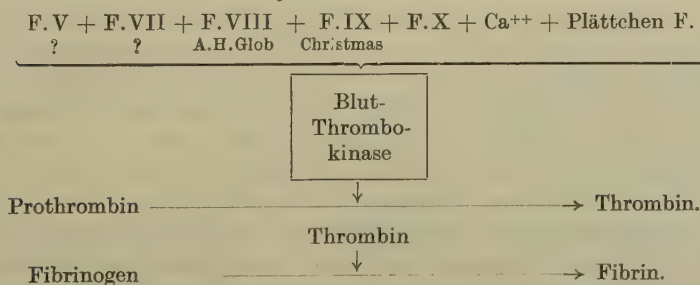
Damit war aber das Rätsel der Blutgerinnung noch keineswegs gelöst. Vor allem sind die Einstufenmethoden völlig unbrauchbar für die Diagnose des Prototyps aller hämorrhagischen Diathesen, der *hereditären Hämophilie*. Die QUICKsche Methode gibt in der Tat bei der Bluterkrankheit völlig normale Werte. Man hatte daraus den Schluß gezogen, daß die Gerinnungsstörung der Hämophilie durch die *Gehirn*-Thrombokinese überdeckt wurde, mit anderen Worten, daß die Hämophilie selbst durch ein Thrombokinasedefizit gekennzeichnet sei. Es konnte aber gezeigt werden, daß die *Gewebs*-Thrombokinese beim Hämophilen ebenso aktiv ist wie beim Normalen. Demnach mußte ein Mangel an *Blut*-Thrombokinese angenommen werden.

* Wir haben oben bereits die Gründe auseinandergesetzt, die uns veranlaßt haben, die Bezeichnung Faktor VII einzuführen, trotzdem mit der Einstufenmethode nur 6 gerinnungsfördernde Faktoren mit Sicherheit nachgewiesen werden können (Faktor V u. VI beziehen sich auf denselben Faktor).

Damit stoßen wir auf den *fundamentalen Unterschied zwischen Blut- und Gewebs-Thrombokinase*. Daß das Blut selbst eine Thrombokinase enthalten muß, war ohne weiteres anzunehmen, denn auch wenn bei der Blutentnahme eine Vermischung mit Gewebssaft peinlichst vermieden wird, tritt die Gerinnung im Glasröhrchen regelmäßig nach einigen Minuten ein. Die Tatsache, daß die Gerinnung viel langsamer erfolgt als bei Zusatz von Gewebsthrombokinase (d. h. in etwa 5 min anstatt in 11 sec bei Zugabe von Gehirnthrombokinase) wurde in dem Sinne gedeutet, daß die Blutthrombokinase wesentlich schwächer sei als die Gewebsthrombokinase. Es ist das Verdienst von BIGGS u. MACFARLANE^{3, 4}, diese Annahme als völlig unbegründet erkannt zu haben. Die Blutthrombokinase ist tatsächlich ebenso aktiv, wenn nicht aktiver als die Gewebsthrombokinase. Der Unterschied besteht nur darin, daß die Gewebsthrombokinase bereits in fertiger Form vorliegt, bzw. daß die Aktivierung mit Calcium, Faktor V und Faktor VII momentan erfolgt, während die Blutthrombokinase durch das Zusammenwirken einer ganzen Reihe von Faktoren erst gebildet werden muß. Diese Bildung bedarf einer gewissen Zeit, eben der bekannten Gerinnungszeit des normalen Blutes von etwa 5 min. Ist die Blutthrombokinase aber einmal gebildet, dann ist sie imstande, Oxalatplasma nicht nur in 11 sec wie die Gehirnthrombokinase, sondern sogar in 5—8 sec zur Gerinnung zu bringen.

Beide Arten der Gerinnung, diejenige mit Gewebsthrombokinase und diejenige mit Blutthrombokinase, spielen bei der Blutstillung eine Rolle. Wenn sich bei einer Verletzung Gewebssaft dem Blute beimischt, so erfolgt eine sehr rasche, wenn auch erst vorläufige Gerinnung, die dann durch die nachträgliche Einwirkung der Blutthrombokinase ergänzt und konsolidiert wird. Dieser Vorgang wird noch dadurch kompliziert, daß das *Thrombin*, das sich im Beginn unter dem Einfluß der Gewebsthrombokinase bildet, *autokatalytisch*, die Bildung der Blutthrombokinase beschleunigt.

Gerinnung mit Blut-Thrombokinase.



Die in obigem Schema in der obersten Reihe figurierenden Faktoren scheinen *keinen direkten Einfluß* auf die Umwandlung des Prothrombins

in Thrombin zu haben; sie sind lediglich bei der Bildung der Blutthrombokinasen beteiligt. Wir konnten dies dadurch nachweisen, daß wir zur fertig gebildeten Blutthrombokinasen einen Teil der oben erwähnten Faktoren in gereinigter Form zusetzen: Weder Calcium, noch Faktor V, noch Faktor VII sind imstande, unter diesen Umständen eine weitere Aktivitätssteigerung zu bewirken (vgl. DUCKERT u. Mitarb.⁸). Für die Faktoren V und VII, die bei der Gerinnung mit *Gewebs*-Thrombokinasen eine so entscheidende Rolle spielen, ist sogar die Mitwirkung bei der *Bildung* der Blutthrombokinasen nicht außer Zweifel, was im Schema durch die Fragezeichen angedeutet ist.

Die klassische MORAWITZ-Lehre erlebt somit eine Auferstehung. Was innerhalb der letzten 50 Jahre hinzugekommen ist, betrifft lediglich die Vorphase der Gerinnung, in welcher durch das Zusammenwirken einer ganzen Reihe von Faktoren die Blutthrombokinasen gebildet wird. Unter diesen Faktoren befindet sich auch das Calcium, das somit, entgegen der Darstellung im klassischen Schema, nicht *direkt* auf die Umwandlung des Prothrombins wirkt.

Die Existenz der relativ zahlreichen Faktoren, die in die Vorphase eingreifen, wird dadurch bewiesen, daß dem *Mangel eines jeden Faktors* (mit Ausnahme von Calcium) *eine besondere Form hämorrhagischer Diathese entspricht*. Dem Calcium kommen noch so lebenswichtige andere Funktionen zu (abgesehen von der Blutgerinnung), daß eine Verminderung seiner Konzentration auf Werte, welche die Blutgerinnung merklich verzögern würden, mit dem Leben nicht mehr vereinbar wären. Tab. 1, in welcher die gerinnungsfördernden Faktoren nach dem Zeitpunkt ihrer Entdeckung numeriert sind, zeigt ferner, daß dem Mangel eines jeden Faktors sowohl eine *kongenitale bzw. hereditäre*, als auch eine *erworbene Form* hämorrhagischer Diathese entspricht. Das Fehlen eines einzigen Gerinnungsfaktors wurde bisher nur bei den hereditären Formen beobachtet; bei den erworbenen sind stets mehrere Faktoren gleichzeitig in Mitleidenschaft gezogen. Die Störung ist somit bei den hereditären Formen wesentlich selektiver. Neuerdings haben wir allerdings zeigen können, daß in den von uns beobachteten Fällen von hereditärer Parahämophilie (OWREN) das Faktor V-Defizit mit einem Faktor VIII-Mangel kombiniert ist (Tab. 1). Die vererbten Koagulopathien weisen — soweit wir dies heute übersehen können — einen *rezessiven* Erbgang auf, eine Eigenschaft, die einen gewissen Schutz gegen das Auftreten der hämorrhagischen Diathese gewährt.

Schon lange bekannt ist der rezessiv geschlechtsgebundene Erbgang der *Hämophilie*. Auffallenderweise liegt dieser scheinbar so wohl charakterisierten hämorrhagischen Diathese kein einheitlicher Gerinnungsdefekt zugrunde. Wir beobachteten 1950 eine Familie (Moëna) mit rezessiv-geschlechtsgebundener hämorrhagischer Diathese¹³, die sich von der

klassischen Hämophilie nur dadurch unterschied, daß die klinischen Erscheinungen milder waren und daß insbesondere keine Gelenkblutungen und -versteifungen auftraten. Wurde nun Blut von dieser Familie mit Blut eines typischen Hämophilen gemischt, so trat eine vollständige Normali-

Tabelle 1. *Koagulopathien.*
Mangel gerinnungsfördernder Faktoren im Plasma:

	Hereditär	Erworben
Faktor I: Fibrinogen.	Afibrinogenämie	Leberzell-Affektionen (schwerste Formen)
Faktor II: Prothrombin . . .	Sog. idiopathische Hypoprothrombin- ämie	Leberzell-Affektionen K-Avitaminosen Dicumarol- wirkung Neugeborener
Faktor III: Thrombokinase.	(siehe Faktor VIII und IX)	
Faktor IV: Calcium	—	—
Faktor V (und VI)	Parahämophilie	Leberzell-Affektionen Purpura fulminans
Faktor VII	Fälle v. VAN BELLE ALEXANDER, OWREN	Leber-Affektionen K-Avit- aminosen, Dicumarolwirkung Neugeborener
Faktor VIII: Antihämophi- les Globulin	Hämophilie A Parahämophilie	Hämophiloid des Neu- geborenen ?
Faktor IX: Christmas Factor	Hämophilie B	?
Faktor X.	Hämophilie C ?	Leber-Affektionen, K-Avit- aminosen, Dicumarolwirkung, Neugeborener

Vorhandensein gerinnungshemmender Faktoren:

Hemmkörper der 1. Gerin- nungsphase (Antiprothrom- bin ? Antithrombokinase ?)	sog. Hemmkörperhämophilie (Deutsch)
Hemmkörper der 2. Gerin- nungsphase (Antithrombin)	Leberzell-Affektionen, allergi- sche Zustände, Purpura ful- minans, (Purpura rheumatica, Purpura abdominalis) Hepa- rinwirkung

sierung der Gerinnung ein. Wir haben daraus den Schluß gezogen, daß die hereditäre Hämophilie durch den Mangel zweier verschiedener Gerinnungsfaktoren verursacht werden könne. 1952 haben BIGGS u. MACFARLANE³, ferner AGGELER u. a.¹ sowie SCHULMAN u. a.²¹ diese Beobachtung mit moderneren Methoden bestätigt. AGGELER nannte den zweiten „antihämophilen“ Faktor Plasma-Thromboplastin-Component

(P. T. C.), BIGGS u. MACFARLANE prägten dafür die Bezeichnung „Christmas-Factor“, weil der von ihnen untersuchte hämophile Knabe den Vornamen Christmas hatte und weil die Untersuchungen zur Weihnachtszeit durchgeführt wurden. Entsprechend wurde diese Form der Hämophilie als „Christmas-Disease“ von der gewöhnlichen Bluterkrankheit abgetrennt. Dazu ist zu sagen, daß im deutschen Sprachgebiet die Möglichkeiten der Vornamen beschränkter sind als im englischen und daß wir die beiden Formen der Bluterkrankheit lediglich gerinnungsphysiologisch, nicht aber klinisch oder genetisch unterscheiden können. Es scheint uns daher richtiger, die Bezeichnung Hämophilie für beide Formen beizubehalten und sie als *Hämophilie A und B* zu differenzieren^{5a}. Die beteiligten Gerinnungsfaktoren wurden von uns in Fortsetzung der bisherigen Numerierung mit einer Ziffer gekennzeichnet, wobei Faktor VIII dem antihämophilen Globulin, Faktor IX dem Christmas Faktor oder P. T. C. entspricht.

Die ungewöhnlich milde Form der Hämophilie, die wir 1950 beobachteten (Mcöna-Familie, siehe oben) konnte nachträglich geklärt werden: es handelte sich um eine Hämophilie A, bei welcher der Faktor VIII nicht vollständig fehlte, sondern in einer Konzentration von etwa 25% noch vorhanden war. Eine ähnliche Familie ist von BRINKHOUS u. Mitarb.¹⁰ beschrieben und als *allele* Form der Hämophilie bezeichnet worden. Wahrscheinlich sind derartige Fälle mit nur partiellem Verlust eines „antihämophilen“ Faktors häufiger als bisher angenommen wurde. Der „typische“ Hämophile, den wir bei der Untersuchung der Moëna-Familie als Testperson verwendeten, litt — wie sich nachträglich herausstellte — an Hämophilie B; sein Plasma war daher imstande, den Gerinnungsdefekt der Moëna-Familie aufzuheben.

Die Hämophilie B scheint in der Schweiz, im Gegensatz zu England, keineswegs selten zu sein. Wir haben mit moderner Technik bisher 19 Hämophile untersucht; 10 davon zeigten die Charakteristika der Hämophilie A, 9 die der Hämophilie B. 4 Vertreter der Bluterfamilie von Tenna, die von T. HOESSLE besonders eingehend studiert worden ist, zeigten alle die Kennzeichen der Hämophilie B. Diese Feststellung legt die Annahme nahe, daß *in derselben Familie auch stets dieselbe Form der Hämophilie vorkomme*. In der Bluterfamilie des Zürcherobersandes (Pfenninger) fanden wir allerdings sowohl eine Hämophilie A als auch eine Hämophilie B. Die Stammbäume dieser beiden Hämophilie-Arten vereinigen sich aber erst im 16. Jahrhundert, so daß man wohl 2 verschiedene, genetisch unabhängige Anomalien annehmen darf.

Gestatten Sie mir noch einige Bemerkungen zur *Methodik*. Es machte sich naturgemäß das Bedürfnis geltend, auch diejenigen Gerinnungsfaktoren, welche mit der QUICKSchen Methode nicht erfaßt werden

(Faktor VIII—X) mit Hilfe einer nicht zu komplizierten, klinisch brauchbaren Technik zu bestimmen. Die Verwendung von Gewebsthrombokinase wie bei der QUICKSchen Methode kam dafür nicht in Frage, da die erwähnten Faktoren nur bei der Bildung der *Blutthrombokinase* beteiligt sind. BIGGS u. MACFARLANE haben nun eine Methode angegeben, welche die Bildung der Blutthrombokinase mit Hilfe der auf S. 95 angegebenen Faktoren schrittweise zu verfolgen gestattet (sogenannter Thrombokinasebildungstest). Das Prinzip der Methode besteht darin, die Faktoren der Vorphase (oberhalb der Klammer im Schema von S. 95) zunächst auf einander einwirken zu lassen und das dadurch gebildete Produkt (d. h. die Blutthrombokinase) sodann mit Prothrombin zur Reaktion zu bringen. Um eine Störung in der Bildung der Blutthrombokinase lokalisieren zu können, sollten die bei ihrer Bildung beteiligten Faktoren womöglich einzeln zum Reaktionsgemisch zugegeben werden. Da diese Forderung zur Zeit nicht erfüllt werden kann, hat man sich damit begnügen müssen, die relativ zahlreichen Faktoren der Vorphase wenigstens in kleinere Gruppen aufzuteilen, wie dies unten angegeben ist. Bei allen 4 Gruppen des Thrombokinasebildungsgemisches muß darauf geachtet werden, daß kein Prothrombin vorhanden ist, da sonst die Thrombinbildung bereits in Gang kommen und die Resultate des Testes beeinflussen würde. Dieses Postulat wird in der ersten Gruppe durch die BaSO_4 -adsorption erreicht, in der zweiten durch die Verwendung von Serum, welches 2 Std nach der Gerinnung normalerweise nur noch Spuren von Prothrombin enthält:

Thrombokinase-Bildungs-Test.*

Blut- thrombo- kinase	{	Faktor V	} 1) BaSO_4 -Plasma
		Faktor VIII: Antihämophiles Globulin	
	{	Faktor VII	} 2) Serum
		Faktor IX: PTC, Christmas Factor	
		Plättchenfaktor	3) Plättchen- suspension
		Calcium	4) m/40 CaCl_2

Das Verhalten der Gerinnungsfaktoren nach der Gerinnung ist erst in den letzten Jahren Gegenstand systematischer Untersuchungen geworden. BRINKHOUS⁵ hat erstmals das Prothrombin unmittelbar nach der Gerinnung, im Serum, bestimmt und dabei festgestellt, daß es — wie erwähnt — normalerweise beinahe vollständig verschwindet (da es in Thrombin umgewandelt wird), während es bei der Hämophilie und Thrombocytopenie zu einem großen Teil erhalten bleibt. Diese Beobachtungen führten zur Ausarbeitung des sogenannten Prothrombin-Verbrauchs-Testes. Das Verhalten der übrigen Gerinnungsfaktoren ist

* Faktor X war bei der Einführung dieses Testes noch nicht bekannt.

schematisch in Abb. 6 dargestellt. Es geht daraus hervor, daß die Mehrzahl der Faktoren während oder doch innerhalb weniger Stunden nach der Gerinnung weitgehend verschwinden*, während das Calcium sowie die Faktoren VII, IX und X im Serum erhalten bleiben. Das leicht erhältliche Serum erlaubt somit bereits

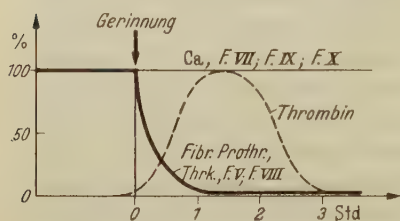


Abb. 6. Verhalten der Gerinnungsfaktoren nach der Gerinnung.

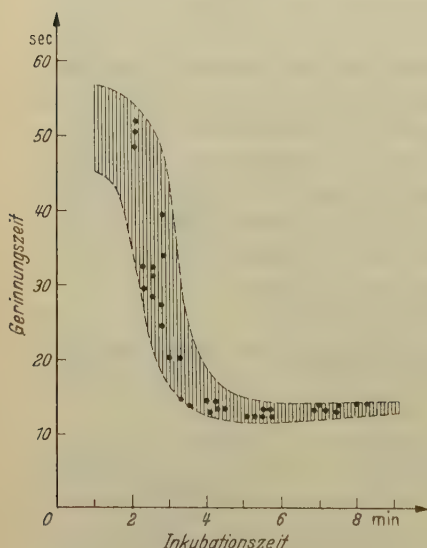


Abb. 7. Normale Schwankungsbreite des Thrombokinasetestes (Gerinnungszeiten, die durch Zusatz des verschieden lang inkubierten Thrombokinasemischungen zu Oxalatplasma erhalten werden).

zugesetzt werden. Die dabei beim Gesunden erhaltenen Gerinnungszeiten sind in Abb. 7 dargestellt. Aus ihr geht hervor, daß die Bildung

unter den Gerinnungsfaktoren eine wertvolle Auswahl zu treffen, wobei besonders hervorzuheben ist, daß es von den Hämophiliefaktoren nur den bei Hämophilie B fehlenden Gerinnungsfaktor enthält (Faktor IX), nicht aber den Faktor VIII, dessen Mangel der Hämophilie A zugrunde liegt. Die Untersuchung des Serums eines Hämophilen im *Thrombokinas-Bildungstest* ermöglicht daher bereits die Unterscheidung der beiden Formen der Bluterkrankheit.

Der *Plättchenfaktor* wird in Form einer von Plasma befreiten Plättchensuspension zugesetzt. Die Herstellung derselben ist etwas zeitraubend (vgl. FLÜCKIGER, HÄSSIG u. KOLLER⁹). Sie wird jedoch zweckmäßig in größerer Menge hergestellt und im Tiefkühler aufbewahrt, aus welchem sie jederzeit in unmittelbar verwendungsfähiger Form entnommen werden kann.

Wenn nun die 4 Faktorengruppen gemischt und bei 37° inkubiert werden, so kann in regelmäßigen Zeitabschnitten (z. B. jede Minute) eine Probe davon entnommen und einem prothrombin- und fibrinogenhaltigen Material (z. B. Oxalatplasma)

* Der Übersicht halber wurde die oft enorme, vorübergehende Aktivierung des Faktors V unmittelbar nach der Gerinnung in Abb. 6 nicht berücksichtigt. Sie macht in der Regel schon nach 2 Stunden einer starken Abnahme der Aktivität Platz. Ebenso wenig wurde die häufige Aktivierung des Faktors VII im Anschluß an die Gerinnung besonders dargestellt.

der Blutthrombokinasen normalerweise nach 3—5 min das Maximum (die Gerinnungszeit infolgedessen das Minimum) erreicht. Irgend eine Aktivitätsverminderung eines für die Bildung der Blutthrombokinasen notwendigen Faktors verursacht eine Verzögerung der erwähnten Testkurve. Wird z. B. eine der 4 Faktorengruppen mit physiologischer NaCl-Lösung

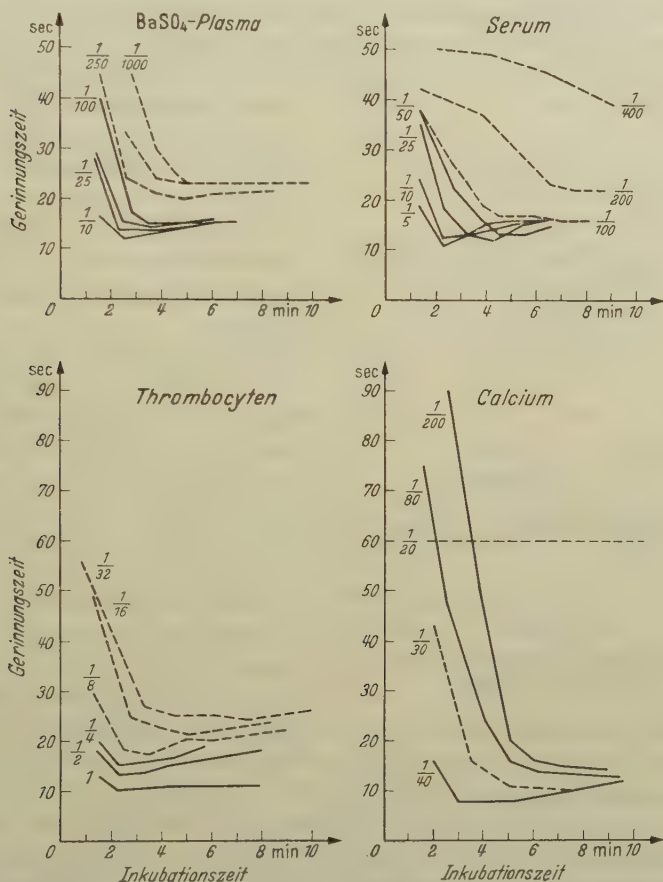


Abb. 8. Der Einfluß der Verdünnung einzelner Gerinnungsfaktoren (bzw. Faktorengruppen) auf die Thrombokinasenbildung. (Von den 4 „Komponenten“ des Testes werden 3 konstant gehalten und eine verdünnt.)

verdünnt, während die übrigen 3 konstant gehalten werden, so ist die Thrombokinasenbildung um so geringer und langsamer je stärker die Verdünnung gewählt wurde. Es ist von Interesse, daß die Verdünnung der Plättchensuspension in erster Linie auf die Menge der produzierten Thrombokinasen von Einfluß zu sein scheint, während die Verdünnung der Calciumchloridlösung, des BaSO₄-plasmas und des Serums vor allem die Geschwindigkeit der Thrombokinasenbildung vermindern (Abb. 8).

Der Thrombokinasebildungstest, dessen Prinzip wir soeben skizziert haben, hat sich uns in der oben erwähnten, vereinfachten Modifikation ausgezeichnet bewährt, insbesondere für die Erfassung derjenigen Gerinnungsfaktoren, die mit der Quickschen Technik außer acht gelassen werden. Der Test erlaubt zwar keine quantitative Bestimmung der erwähnten Faktoren bzw. Faktorengruppen; er gibt aber eine brauchbare Orientierung über ihre Aktivität. Unbefriedigend bleibt allerdings die Tatsache, daß sowohl das an BaSO_4 adsorbierte Plasma, als auch das

Serum mindestens 2 bzw. 3 Gerinnungsfaktoren enthalten und der Test zwischen diesen Faktoren nicht zu unterscheiden vermag. Wir haben uns speziell für die Serumfaktoren und ihr Verhalten unter pathologischen Zuständen interessiert:

Bisher waren im Serum außer Calcium nur 2 Gerinnungsfaktoren: Faktor VII und Faktor IX (Christmas Factor, P.T.C.) bekannt.

Wenn wir im Thrombokinasebildungstest an Stelle von normalem Serum Dicumarolserum verwenden, so ist die Thrombokinasebildung regelmäßig stark verzögert. Diese Feststellung ist weiter nicht erstaunlich, da das Dicumarol bekanntlich die Kon-

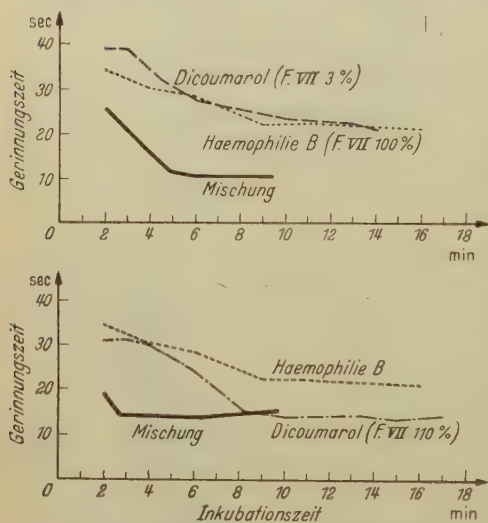


Abb. 9. Wirkung des Dicumarols auf die Thrombokinasebildung.

zentration des Faktors VII sowohl im Plasma wie im Serum herabsetzt. Wir hatten aber Gelegenheit, Serum eines Patienten zu untersuchen, der zunächst Dicumarol, dann infolge von Blutungen Vitamin K_1 erhalten hatte. Letzteres hatte die Konzentration des Faktors VII bereits wieder normalisiert; trotzdem war die Thrombokinasebildung mit diesem Serum noch deutlich verzögert. War diese bedingt durch eine Verminderung des Faktors IX? Mischung des erwähnten Serums mit Serum eines Patienten, der an totalem Faktor IX-Mangel (= Hämophilie B) litt, ergab eine vollständige Normalisierung. Ein Faktor IX-Mangel kam somit nicht in Frage als Ursache der verzögerten Thrombokinasebildung. Es mußte der Mangel eines weiteren Serumfaktors angenommen werden (Abb. 9).

Das Serum von Patienten, die an einem Leberparenchymschaden leiden (Hepatitis oder Lebercirrhose) ergibt in der Regel ebenfalls eine verzögerte Thrombokinasebildung. Bei einigen dieser Fälle ist der Gehalt an Faktor VII im Bereiche der Norm. Mischung dieser Sera mit Hämophilie B

philie B-Serum ergibt wiederum eine vollständige Normalisierung. Auch hier kann somit weder ein Mangel an Faktor VII noch solcher an Faktor IX die Verzögerung erklären; es muß ein weiterer Faktor in diesen Sera

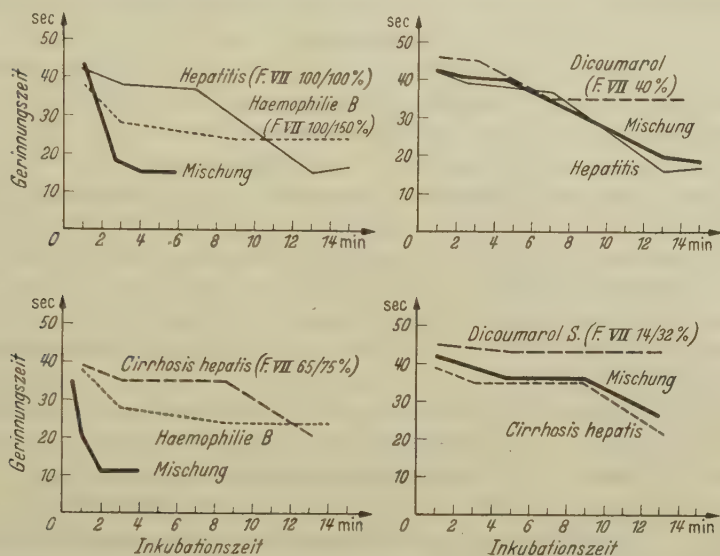


Abb. 10. Wirkung der Leberparenchymschädigung auf die Thrombokinasbildung. (Von den 2 Prozentzahlen für Faktor VII bezieht sich die erste auf die Konzentration im Plasma, die zweite auf diejenige im Serum.)

fehlen oder in stark verminderter Konzentration vorhanden sein (Abb. 10). Es ist derselbe, der im Dicoumarolplasma fehlt.

Im Serum von Neugeborenen ist die Faktor VII-Konzentration bekanntlich reduziert, im Falle von Abb. 11 z. B. auf 40%. Diese Verminderung genügt jedoch nicht, um die starke Verzögerung der Thrombokinasbildung zu erklären; ebenso wenig kann ein Faktor IX-Mangel als Ursache derselben angenommen werden (wieder Normalisierung mit Häophilie B-Serum).

Beim Stehenlassen von normalem Serum (bei 37°C) nimmt dessen Aktivität bei der Thrombokinasbildung progressiv ab, trotzdem die Konzentration von Faktor VII während dieser Zeit völlig unverändert bleibt. Eine Verminderung des Faktor IX kann als Grund für diese Aktivitätsverminderung nicht geltend gemacht werden, da Mischung des

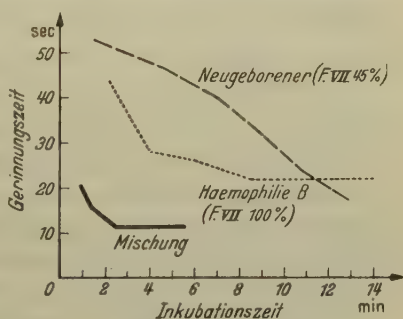


Abb. 11. Thrombokinasbildung beim Neugeborenen.

Aktivitätsverminderung nicht geltend gemacht werden, da Mischung des

stehen gelassenen Serum mit Faktor IX-Mangel-Serum eine Normalisierung in allen Proben (bis 60 Std) zustande bringt.

Bei Verabreichung von Vitamin K₁ bei mit Dicumarol behandelten Patienten steigt bekanntlich die Konzentration des Faktor VII sehr rasch bis zur Norm an. Der Thrombokinasetest zeigt keine entsprechend rasche Normalisierung, so daß dessen Verzögerung auf den Mangel eines andern Faktors zurückzuführen ist. Ein Faktor IX-Defizit kommt aus oben erwähnten Gründen nicht in Frage.

Alle diese Beobachtungen haben uns veranlaßt, die Existenz eines weiteren, bisher nicht bekannten Gerinnungsfaktors anzunehmen. Auf die Einwände, die gegen diese Annahme gemacht werden können, sind wir an anderer Stelle eingegangen. Ihre Diskussion würde den Rahmen dieser Übersicht sprengen. Wir schlagen vor, den neuen Faktor als Faktor X zu bezeichnen; er reiht sich ein in die Serie von Gerinnungsfaktoren, die für die Bildung der Blutthrombokinasen unentbehrlich sind (S. 95).

Ein biologischer Mechanismus von der Bedeutung der Blutgerinnung ist kaum denkbar ohne die Existenz einer *Gegenregulation*. In der Tat kennen wir neben den gerinnungsfördernden auch eine Reihe von *gerinnungshemmenden Faktoren*. Das Studium der letzteren ist noch wesentlich weniger weit fortgeschritten als das der gerinnungsfördernden Faktoren. Wir möchten uns daher auf die wesentlichsten Inhibitoren beschränken:

1. Heparin-Antithrombin.
2. Sogenanntes „natürliches“ oder „normales“ Antithrombin in Plasma und Serum.
3. Antithrombin-Accelerator(-SEEGER²²).
4. Fibrinolytin.

Klinische Bedeutung haben bisher nur 2 prinzipiell zu trennende gerinnungshemmende Faktoren erlangt (Tab. 1):

1. Ein Hemmkörper der 1. Gerinnungsphase oder Vorphase (Anti-prothrombin? Antithrombokinas?).
2. Ein Hemmkörper der 2. Gerinnungsphase (Antithrombin).

Es ist sehr wohl möglich, daß verschiedene Faktoren als Hemmkörper sowohl der ersten wie der zweiten Phase wirken können. So sind z. B. neben dem Heparin-Antithrombin noch andere rasch wirkende Inhibitoren der 2. Phase beobachtet worden, die sich durch Protaminzusatz — im Gegensatz zu Heparin — nicht neutralisieren lassen.

Die hämorrhagische Diathese, welche durch einen Hemmkörper der 1. Phase bedingt wird, ist von DEUTSCH als „Hemmkörperhämophilie“ bezeichnet worden. Sie kann als Begleitsymptom einer echten Hämophilie, aber auch unabhängig davon auftreten. — Ein Hemmkörper der

2. Phase, ein rasch wirkendes Antithrombin, wird regelmäßig bei Leberparenchymaffektionen beobachtet. Bei gewissen allergischen Zuständen (Purpura necroticans, Purpura fulminans) kann ein derartiger Hemmkörper gelegentlich in enormer Aktivität vorhanden sein.

Was den *Nachweis der gerinnungshemmenden Faktoren* anbetrifft, so möchten wir lediglich auf eine prinzipielle Frage kurz eingehen: Wie kann der Mangel eines gerinnungsfördernden Faktors von einem Überschuß eines gegen denselben Faktor gerichteten Hemmkörpers unterschieden werden? Beide Gerinnungsstörungen verursachen eine Verlängerung der Gerinnungszeit. Der Unterschied wird aber sehr deutlich, wenn das pathologische Plasma mit Normalplasma gemischt wird. Ist ein Hemmkörper vorhanden, so wird er seinen Einfluß auch noch in einer Mischung von einem Teil pathologischem und 10 Teilen normalem Plasma geltend machen. Liegt dagegen ein Mangel eines gerinnungsfördernden Faktors vor, so wird dieselbe Mischung eine völlig normale Gerinnungszeit ergeben. Das Verhältnis muß umgekehrt sein, d. h. es muß 10mal mehr pathologisches als normales Plasma vorhanden sein, damit der Gerinnungsdefekt überhaupt zum Vorschein kommt (Abb. 12). Diese Feststellung wird dadurch erklärt, daß jeder gerinnungsfördernde Faktor im normalen Plasma in einem großen Überschuß vorhanden ist. Erst wenn die Konzentration desselben auf etwa 10% der Norm reduziert wird, beginnt die Gerinnungszeit anzusteigen.

Überblicken wir zum Schluß nochmals die relativ große Zahl von Gerinnungsfaktoren, so drängt sich die Frage auf, weshalb der Vorgang der Blutgerinnung so kompliziert sei. Ohne uns auf zu weitgehende teleologische Deutungen einzulassen, glauben wir doch kaum fehlzugehen in der Annahme, daß die *Vielheit der Faktoren, die zum Zustandekommen der Blutgerinnung notwendig sind, einen gewissen Schutz des Organismus gegen die Spontangerinnung innerhalb der Gefäßbahn, d. h. gegen die Thrombose, darstellt*. Dieser Schutz wird durch die Gegenwart gerinnungshemmender Faktoren noch verstärkt.

Andererseits verfügt der Organismus auch über Sicherungen gegen die entgegengesetzte Gefahr: die hämorrhagische Diathese. Auf die Tatsache, daß sämtliche gerinnungsfördernden Faktoren in einem großen Überschuß im Blute vorhanden sind, haben wir soeben hingewiesen, ebenso auf den

Mischung von pathologischem und normalem Plasma.

■ patholog. Plasma □ Normalplasma

A. Gerinnungsverzögerung durch Mangel eines gerinnungsfördernden Faktors.

Mischung	Gerinnungszeit (Rekalkifizierung)
1:1	normal
10:1	normal

B. Gerinnungsverzögerung durch gerinnungshemmenden Faktor.

1:1	stark verlängert
1:10	verlängert

Abb. 12. Nachweis gerinnungshemmender Faktoren.

rezessiven Erbgang der Koagulopathien. Kommt es trotz dieser Sicherungen zu einer totalen Ungerinnbarkeit des Blutes, z. B. infolge angeborenen Fibrinogenmangels, so ist das Leben immer noch möglich. Wir kennen einen Jungen, der trotz einer seit Geburt bestehenden Afibrinogenämie bereits das 16. Altersjahr erreicht hat. Eine gewisse Blutstillung ist auch bei ihm noch möglich, ein Beweis, daß die Gerinnung nicht den einzigen Mechanismus der Blutstillung darstellt, sondern ergänzt und vervollständigt wird durch die vasculäre und thrombocytaire Reaktion. Diese letztgenannten Mechanismen sind aber bei weitem noch nicht so eingehend erforscht wie die Blutgerinnung. Das Studium der Koagulation ist dank der schon relativ weit fortgeschrittenen Differenzierung in besonderem Maße geeignet, Einblicke zu gewähren in Zusammenhänge von allgemein biologischer Bedeutung.

Literatur.

- ¹ AGGELER, P. M., S. G. WHITE, E. W. GLENDENING and P. B. PAGE: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **79**, 692 (1952). — ² ALEXANDER, B., R. GOLDSTEIN and G. LANDWEHR: *J. Clin. Invest.* **29**, 881 (1950). — ³ BIGGS, R., A. S. DOUGLAS, R. G. MACFARLANE, J. V. DACIE, W. R. PITNEY, C. MERSKEY and J. R. O'BRIEN: *Brit. Med. J.* **1952**, 1378. — ⁴ BIGGS, R., A. S. DOUGLAS: *J. Clin. Path.* **6**, 23 (1953). — ⁵ BRINKHOUS, K. M.: *Amer. J. Med. Sci.* **198**, 509 (1939). — ^{5a} CRAMER, R., P. FLÜCKIGER, C. GASSER, F. KOLLER, A. LOELIGER u. M. MATTER: *Acta Hämatol.* **10**, 65 (1953). — ⁶ DEUTSCH, E.: *Die Hemmkörperhämophilie*. Wien: Springer 1950. — ⁷ DUCKERT, F., F. KOLLER and M. MATTER: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **82**, 259 (1953). — ⁸ DUCKERT, F., P. FLÜCKIGER, E. ISENSCHMID, M. MATTER u. F. KOLLER: *Acta Hämatol.* **1954** (im Druck). — ^{8a} FANTL, P., and M. H. NANCE: *Nature (Lond.)* **158**, 708 (1946). — ⁹ FLÜCKIGER, P., A. HÄSSIG u. F. KOLLER: *Schweiz. med. Wschr.* **1953**, 1035. — ¹⁰ GRAHAM, J. B., W. W. McLENDON and K. M. BRINKHOUS: *Amer. J. Med. Sci.* **225**, 46 (1953). — ¹¹ KOLLER, F., A. LOELIGER u. F. DUCKERT: *Acta Hämatol.* **6**, 1 (1951). — ¹² KOLLER, F., A. LOELIGER, F. DUCKERT u. H. HU-WANG: *Dtsch. med. Wschr.* **1952**, 528. — ¹³ KOLLER, F., G. KRÜSI u. P. LUCHSINGER: *Schweiz. med. Wschr.* **1950**, 1101. — ¹⁴ KOLLER, F., P. FLÜCKIGER, E. ISENSCHMID, F. DUCKERT u. M. MATTER: *Acta Hämatol.* **1954** (im Druck). — ^{14a} MORAWITZ, P.: *Erg. Physiol.* **4**, 309 (1905). — ¹⁵ NOLF, P.: *Schweiz. med. Wschr.* **1945**, 110. — ¹⁶ OWREN, P. A.: *Acta med. scand. (Stockh.) Suppl.* **194**, 1 (1947). — ¹⁷ OWREN, P. A.: *Scand. J. clin. Laborat. Investig.* **3**, 168 (1951). — ¹⁸ QUICK, A. J., STANLEY-BROWN and F. BAUCROFT: *Amer. J. Med. Sci.* **190**, 501 (1935). — ¹⁹ QUICK, A. J.: *J. Biol. Chem.* **109** (1935). — ²⁰ QUICK, A. J.: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **72**, 232 (1949). — ²¹ SCHULMAN, J., and C. H. SMITH: *Blood* **7**, 794 (1952). — ²² SEEGER, W. H.: in *Blood Clotting and allied Problems*, *Transact. 5th Conference of Josiah Macy, Jr. Foundation*, Jan. 1952, S. 133. — ²³ WARE, A. G., and W. H. SEEGER: *Amer. J. Physiol.* **152**, 567 (1948). — ²⁴ WÖHLISCH, E.: *Verhandl. Dtsch. Ges. innere Med.* **58. Kongr. 1952 Wiesbaden**. S. 481.

Priv.-Doz. Dr. med. F. KOLLER, Zürich/Schweiz, Med. Universitätsklinik.

R. JÜRGENS (Basel): Pharmakologische Beeinflussung der Blutgerinnung.

Mit 19 Textabbildungen.

A. Einleitung.

Im letzten Jahrzehnt wurden pharmakologisch wirksame Substanzen zugänglich, die im lebenden Organismus die Blutungs- bzw. Blutstillungsvorgänge hemmen oder fördern. Sie haben für die Therapie der Haemorrhagischen Diathesen und der Blutungen verschiedener Genese und besonders für die Behandlung von Thrombose und Embolie große Bedeutung. Die Pharmakologie dieser Substanzen ist daher nicht mehr einzelnen Spezialisten für Gerinnungsphysiologie überlassen, sondern Anliegen der großen medizinischen Disziplinen und nicht zuletzt der Pharmakologie selber.

B. Allgemein Pathologisches über Blutung und Thrombenbildung.

Blutung und Thrombenbildung werden durch Dysfunktionen der gleichen Faktoren verursacht. Man kann hier von spiegelbildlichen Beziehungen sprechen, denn gesteigerte Funktionen der beteiligten Faktoren liegen der „Thrombose“, gehemmte den „Haemorrhagischen Diathesen“ zugrunde. So führt die innerhalb alterierter Gefäße gesteigerte Agglutinationsneigung der Thrombocyten im strömenden Blut, ihre größere Haftung an den Gefäßwänden, die Vermehrung oder Aktivierung von Gerinnungsfaktoren und dadurch erhöhte Blutgerinnungsbereitschaft, zur intravitalen Blutpfropfbildung, d. h. zu „Thrombose“. Und umgekehrt bewirkt Verminderung der Blutplättchen, ihrer Haftfähigkeit, ihrer Agglutination oder ihrer Wirkstoffe, das Fehlen bestimmter Gerinnungsfaktoren oder die Hemmung ihrer Reaktionen in den verschiedenen Phasen des Gerinnungsablaufes, bestimmt charakterisierte Blutungen, die speziellen Formen von Haemorrhagischen Diathesen entsprechen.

Pathogenese und damit in Zusammenhang pharmakologische Beeinflussung von Thrombose und Haemorrhagischer Diathese sind eng verknüpft und sollen gemeinsam erörtert werden.

C. Gruppierung der gerinnungswirksamen Pharmaka.

Die genannten Vorgänge können durch pharmakologische Substanzen mit *mannigfaltigen Angriffspunkten* beeinflusst werden. Sie wirken auf die Blutstillungsfunktionen der Gefäße (Adrenalin und Verwandte, Citrin, Rutin) oder unmittelbar auf die Faktoren der Gerinnung (Heparin, Liquoid, Citrat, Oxalat, seltene Erden, Protamin), schließlich auf Gerinnungskomponenten bildende Organe oder Gewebe (Dicumarol und Verwandte, Vitamin K).

Außer nach ihren Angriffspunkten lassen sich die Substanzen auch nach ihrem *Vorkommen* als physiologisch im Organismus vorhandene *körpereigene* und von außen dem Organismus einverleibte, *körperfremde Stoffe* unterscheiden.

D. Anwendung der gerinnungswirksamen Pharmaka.

Die *körpereigenen* Substanzen sind Gerinnungsfaktoren, die isoliert werden konnten und zum Teil als Pharmaka Bedeutung für die Therapie gewonnen haben (Tab. 1).

Unter den *körpereigenen gerinnungsaktiven* Stoffen sind drei als eigentliche *Pharmaka* (Tab. 1) zu bezeichnen, weil sie in der Therapie als Blutstillungsmittel (Thrombokinese und Thrombin) oder als Antikoagulans (Heparin) für die Behandlung von Thrombose regelmäßig verwendet werden. Ihre nähere Charakterisierung ist in Abbildung 1 zusammengestellt. Von den übrigen *Plasmafaktoren* werden einzelne nur gelegentlich therapeutisch angewandt (Tab. 2). Am meisten wird noch *Fibrinogen* in Kombination mit Thrombinlösungen für Blutstillung oder Schoßbildung aus flächenhaften Wunden oder bei Transplantationen gebraucht (Fibrin-Spray). Seltener werden *Lösungen* von angereichertem *Faktor VII*, bzw. *Faktor V* (bei angeborenem Prothrombin- bzw. Faktor VII-Mangel), von *antihämophilem Globulin* oder *Christmas-Factor* (bei Hämophilie oder Christmas Disease) (MAC FARLANE u. Mitarb.¹²) benutzt.

Neuerdings hat VAN CREVELD²⁹ Thrombocytenaufschwemmungen bei Thrombocytopenien und Thrombopathien mit Erfolg infundiert, wobei im Organismus gerinnungsaktive Plättchenfaktoren successive frei werden.

Von den *körperfremden gerinnungsaktiven Pharmaka* (Tab. 3) haben Dicumarol und analog wirkende Verbindungen für die Thrombosetherapie, das Vitamin K (wasserlösliches Menadion) und das Vitamin K₁ (fettlösliches Phytylmenadion) bei Hypoprothrombinämie und Dicumarolhypoprothrombinämie fast überall in der Welt als Pharmaka Eingang gewonnen, während die *Heparinoide* und die *Salze der seltenen Erden* weniger weit verbreitet sind (Tab. 4). *Hirudin* wird allein nicht mehr, in der *Blutegeltherapie* etwas häufiger, *Schlangengifte* als Blutstillungsmittel werden selten gebraucht. Die übrigen gerinnungsaktiven Substanzen (Liquoid, Trypsin, manche Schlangengifte, Papain, Bakteriencoagulasen und eine Reihe anderer Fermente) werden nur in der experimentellen Medizin benutzt.

Wir wollen nun im folgenden über die pharmakologischen Eigenschaften der genannten Pharmaka, ihre chemische und physikalische Beschaffenheit und den Mechanismus ihrer Wirkung auf den Gerinnungsvorgang in vitro oder in vivo anhand pharmakologischer Experimente berichten und auch kurz auf ihre therapeutische Anwendung beim Menschen hinweisen.

Tabelle 1. A. Körper eigene gerinnungswirksame Pharmaka.

	Vorkommen	Chemische Zusammensetzung	Molekulargewicht	Stabilität	Fällung mit	Löslichkeit	Wirkungsmechanismus
<i>Thrombokinase</i>	Im gerinnenden Plasma und allen anderen Geweben, besonders in Gehirn, Lungen, Schilddrüse, Milz	Lipoproteid mit Fermentnatur, artspezifisches Eiweiß (Apoferment) + Phosphatid (Coferment)	etwa 167 Millionen	thermolabile und thermostabile Fraktionen		wasserlösliche und wasserunlösliche Fraktionen	verwandelt in Gegenwart von Ca ⁺⁺ mit Hilfe von Acceleratoren (Plättchenaccelerator, Faktoren V und VII) das Prothrombin in Thrombin
<i>Thrombin</i>	Im gerinnenden Blut	Eiweiß mit Fermentnatur	77 000	zerstört bei 50° C	Ammonsulfat 47% Aceton 50%	leicht wasserlöslich	Spezifische Fibrinogendenaturase. Verwandelt lösliches Fibrinogen in unlösliches Fibrin
<i>Heparin</i>	Leber, Leberkapsel, Aortenwand, Darm, Mastzellen	Mucopolysaccharidpoly-schwefelsäure-ester	12 000	thermostabil	BaCl ₂ , Bariumphosphat, Octylamin, Protamin	leicht wasserlöslich	Wirkt mit Co-Faktoren (Eiweiß) als Antithrombokinase, Antiprothrombin und Antithrombin gerinnungshemmend, wirkt gefäßweiternd, senkt Blutzucker und Brenztraubensäuregehalt, ist ACTH-antagonistisch. Hemmt Hyaluronidase. Verhütet Ablagerung von Cholesterin und Fetten in die Gefäßwände

Tabelle 2. *Isolierte Plasmafaktoren.*

Name	Vorkommen in menschlichem		Molekular- gew.	isoelek- trischer Punkt pH	Stabilität in		Fällung mit	Plasma- frakt. nach COHN (Meth. 6)	Adsorption an	
	Plasma	Serum			Hitze	Konserven- blut			SEITZ- Filter	übrige Adsorbentien
<i>Fibrinogen I</i>	310 mg%	—	500 000	$\leq 5,3$	zerstört bei 56°	++	29% (NH ₄) ₂ SO ₄	I—2	—	—
<i>Prothrombin II</i>	20 mg%	(+)	150 000	4,2	beständig für 5 min bei 56°	++	14fach verdünnt mit H ₂ O bei pH 5,3	III—2	—	BaSO ₄ Ca ₃ (PO ₄) ₂ Al(OH) ₃
<i>Calcium- Ionen IV</i>	2 mg%	+++	40,08	/	+++	+++	Oxalat (Kom- plexbildung mit Citrat oder „Se- questrene“)	/	—	/
<i>Faktor V (VI)</i>	< 31 mg%	V, VI (+) zerstört nach 30 min	—	5,3	zerstört bei 53° in 2 Std	—	30—40% (NH ₄) ₂ SO ₄	II + III	—	Mg (OH) ₂ partiell an BaSO ₄ Ca ₃ (PO ₄) ₂ Al(OH) ₃
<i>Faktor VII</i>	20 mg%	++	—	/	zerstört bei 56° in 2 min	++	—	—	—	BaSO ₄ Ca ₃ (PO ₄) ₂ Al(OH) ₃

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

Name	Vorkommen in menschlichem Plasma		Molekulargew.	Isoelektrischer Punkt pH	Stabilität in		Fällung mit	Plasmafrakt. n. COHN (Meth. 6)	Adsorption an	
	Plasma	Serum			Hitze	Konservatblut			SEITZ-Filter	übrige Adsorbentien
<i>Antithromphiles Globulin VIII</i>	250 mg ^o %	(+)			best. bei 56°	(+)	19% Aether bei —5° und pH 5,8 oder 30—40% (NH ₄) ₂ SO ₄	III—2,3	—	
<i>Christmas-Faktor IX</i>	+++	++			zerstört bei 56° in 10 min	++	33—50% (NH ₄) ₂ SO ₄		+	Al(OH) ₃ BaSO ₄
<i>Profibrinolytin</i>	Plasma Globulin	Serum		5,2	50° 30''		1/3 Sättigung Ammonsulfat	III/3		
<i>Fibrinolytin</i>	Plasma Englobulin	Serum		5,5	zerstört bei 70° 5'		50% Ammonsulfat od. 1/3 Sättigung Ammonfat + Chlorzink	III/3 in Albumin		
<i>Antifibrinolytin</i>	Plasma Globulin	Serum			zerstört bei 60°		Halbsättigung mit Ammonsulfat und Alkohol	in Albumin-Frakt.		

Tabelle 3. *Körperfremde gerinnungswirksame Pharmaka.*

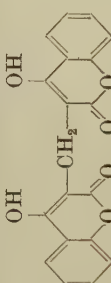
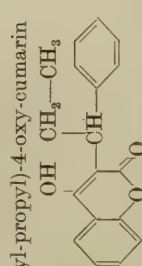
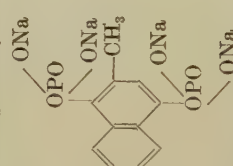
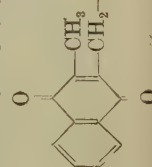
	Vorkommen	Chemische Beschaffenheit	Löslichkeit	Wirkungsmechanismus
Dicumarol und analog wirkende Verbindungen	im faulenden Süßklee, synthetische Verbindungen	3,3'-Methylen-bis-(4-oxy-cumarin) „Dicumarol“  3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin 	schwer wasserlöslich	Hemmung der Bildung von Prothrombin und Faktor VII in Leber, bzw. Reticuloendothel
Vitamin K	Synthese	2-Methyl-1,4-naphthohydrochinondiphosphat 	wasserlöslich	Anregung der Prothrombinbildung in Leber und Reticulumzellen
Vitamin K ₁ (natürliches Vitamin K)	Colibakterien	2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthochinon 	fettlöslich	desgl. und Verdrängung von Dicumarol und Analoga aus den Fermentsystemen in Leber und Reticulumzellen

Tabelle 4. *Andere körperfremde gerinnungswirksame Substanzen.*

	Vorkommen	Chemische Beschaffenheit	Löslichkeit	Wirkungsmechanismus
Heparinoide	Synthese	Sulfurierte Polysaccharide	wasserlöslich	Antithrombokinasewirkung Antiprophthrombinwirkung Antithrombinwirkung
Hirudin	Blutgel-extrakt	Eiweißkörper	wasserlöslich	Antithrombin Gefäßwirkung
Verbindungen seltener Erden	Synthese	Neodymsalz der 3-Sulfoisonicotinsäure	wasserlöslich	Beeinflussung des Prothrombingehaltes
Liquoid	Synthese	Polyanethol-sulfosaures Na	wasserlöslich	Antithrombokinasewirkung Antithrombinwirkung
Schlangengifte	Bothrops, Nötechis, Lachesis	Eiweißkörper mit Fermentnatur	wasserlöslich	Thrombokinasartige Wirkung auf Prothrombin und Faktor VII + Ca und thrombinartige Wirkung
Papain	Milchsaft vom Melonenbaum Carica Papaya	Pflanzliches Ferment	wasserlöslich	Fibrinogengerinnung neben labartiger und proteolytischer Aktivität
Coagulasen aus Bakterien	Diphtheriebacillus B. pyocyaneus B. subtilis B. coli	Eiweißkörper mit Fermentnatur	wasserlöslich	Plasma wird auch in Gegenwart von Anticoagulantien (Oxalat, Heparin, Hirudin) zur Gerinnung gebracht, Wirkung auf das Fibrinogen des Plasmas (Coagulase Reacting Factor)

E. Gerinnungswirksame Pharmaka im Gerinnungsablauf.

Den Ablauf der Blutgerinnung geben wir in einem etwas vereinfachten, gemeinsam mit OERI aufgestellten Schema wieder, das — basierend auf der sog. klassischen Gerinnungstheorie, wie sie MORAWITZ aufgestellt hatte — das pharmakologische Eingreifen der gerinnungsaktiven Pharmaka in die einzelnen Phasen der Blutgerinnung zeigen soll (Abb. 1).

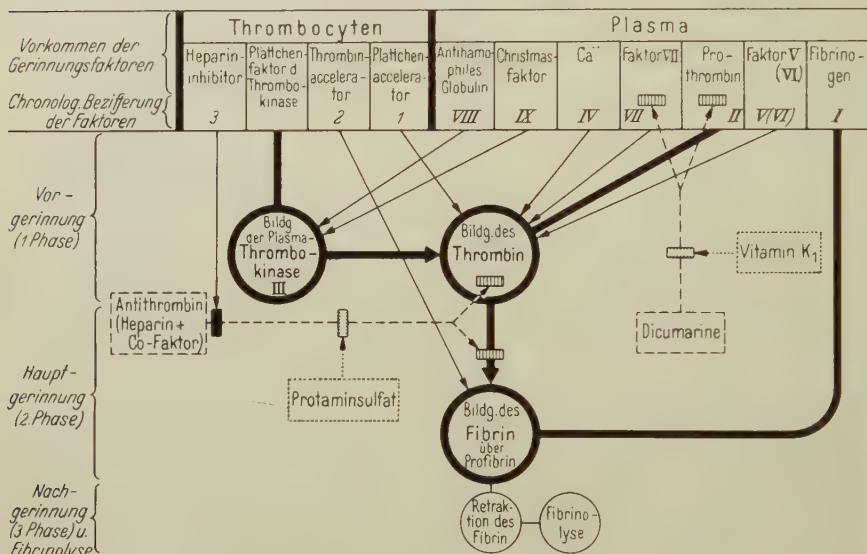


Abb. 1. Gerinnungsschema.

Einmal kann Mangel einzelner Gerinnungsfaktoren zu Blutungen führen. Wir begnügen uns, anhand einer Zusammenstellung zu zeigen, daß tatsächlich dem Fehlen eines jeden Gerinnungsfaktors die Pathogenese einer speziellen Haemorrhagischen Diathese zugrunde liegt (Tab. 5). Zum andern wird die Wirkung der isolierten *körpereigenen* gerinnungsaktiven Pharmaka als *Gerinnungsförderer* (Thrombokinase, Thrombin, Prothrombin, Acceleratoren) und als *Gerinnungshemmer* (Heparin) gezeigt, wie auch das Eingreifen der *körperfremden* Substanzen in die Bildung von Gerinnungsfaktoren (Faktor VII und Prothrombin) und damit in die einzelnen Gerinnungsphasen im Schema angedeutet ist.

In Wahrheit verlaufen aber die einzelnen Reaktionen des Gerinnungsvorganges zeitlich nicht nacheinander, sondern sie überschneiden sich derart, daß eine im Gange befindliche Reaktion bereits den Ablauf der folgenden anregt und unter Umständen beschleunigt und wiederum selbst durch ein entstandenes Produkt rückgreifend beeinflußt wird, wie dies z. B. für das Thrombin und das Heparin gezeigt werden konnte. Der

Übersichtlichkeit halber haben wir in unserem Schema die Rückwirkungen fortgelassen.

F. Wirkung der verschiedenen Pharmaka.

1. Die Thrombokinase (chemische Beschaffenheit und Wirkung).

Die *Thrombokinase* (MORAWITZ), Synonym: Thromboplastin HOWELL, Cytozym BORDET, Thromboplastic protein CHARGAFF, Thrombokinin LENGGENHAGER.

Thrombokinase sind phosphatidhaltige Lipoproteide, deren chemische Reindarstellung noch nicht gelungen ist. Sie wirken als Katalysatoren bei der Prothrombinumwandlung.

Man unterscheidet eine *Plasmathrombokinase*, die erst durch Zusammenwirken eines Plättchenfaktors mit zwei Plasmafaktoren (anti-hämophiles Globulin und Christmas Factor, event. Faktor V und VII) und Calcium wirksam wird, von einer *Gewebsthrombokinase*, die nach Zerstörung der sie enthaltenden Zellen und Gewebe (Gehirn, Lungen, fast alle Gewebe) sofort gerinnungsaktiv ist.

a) Die Plasmathrombokinase.

In der Vorphase der Gerinnung werden aus den Thrombocyten (Tab. 6) bei Kontakt mit benetzbaren Oberflächen gerinnungsaktive Substanzen frei. FEISSLY⁴⁰ hatte durch Ätherextraktion aus Thrombocyten eine gerinnungsaktive Substanz mit einer thermolabilen (Lipoproteid) und einer thermostabilen (Phosphatid) Fraktion erhalten. SEEGERs u. Mitarb.¹⁶⁰ konnten durch Ausfällung mit Ammoniumsulfat und Adsorption an Bariumsulfat einen als Thrombinaccelerator bezeichneten hitzestabilen Aktivator nachweisen, der durch Ultrazentrifugierung bei 32'000 g nicht sedimentiert und die Thrombinwirkung auf das Fibrinogen beschleunigt. Wir konnten mit DIALER (JÜRGENS⁸²) aus zelltrümmer- und plasmafreien Thrombocytenextrakten bei 120'000 g 20 Minuten (Phywe-Zentrifuge) in der klaren, überstehenden Lösung mit Molekulargewicht bis zu 1 Million den gleichen thermostabilen *Thrombinaccelerator* von der *Thrombokinasewirkung* des Plättchenextraktes (im Sediment Molekulargewicht über 100 Millionen) abtrennen, wobei wir außerdem in der überstehenden Lösung einen *Heparininhibitor* fanden mit dem Molekulargewicht unter einer Million (Abb. 2).

VAN CREVELD u. PAULSEN^{28, 31} erhielten mit anderer Methodik durch Adsorption und Elution aus dem schwerlöslichen Anteil des Thrombocytenextraktes ebenfalls einen hitzestabilen, Heparin neutralisierenden Faktor. SEEGERs¹⁶⁰ wies einen Thrombocytenfaktor (Platelet Accelerator) nach, der die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin beschleunigt; er ist hitzelabil (zerstört bis zu 87% bei 53°C in 30 Min.), sedimentiert

Tabelle 5. *Zugehörigkeit der Hämorrhagischen Diathesen zu den einzelnen Gerinnungsfaktoren.*

Gerinnungs-Faktor	Diathesen	
	hereditär, konstitutionell	erworben
Fibrinogen I	Afbrinogenämie Fibrinopenie	Knochenmarksaaffektionen Leberzellaaffektionen
Prothrombin II	Idiopathische Hypoprothrombinämie	Leberzellaaffektionen Verschlußikterus Blutungen durch Vitamin K-Mangel beim Neugeborenen Überdosierung von Dicumarinen
Calcium-Ionen IV	Die Verminderung des Plasma-Calciums führt zum Tode, bevor eine Gerinnungsstörung auftritt	
Faktor V (VI)	Parahämophilie = Morbus Owren	Leberzellaaffektionen Purpura fulminans?
Faktor VII	Kongenitaler Faktor VII-Mangel (Fälle von BELLE, ALEXANDER, OWREN usw.)	Leberzellaaffektionen Verschlußikterus Blutungen durch Vitamin K-Mangel beim Neugeborenen Überdosierung von Dicumarinen
Antihämophiles Globulin VIII	echte Hämophilie	Hämophiloid des Neugeborenen (WILLI) Hemmkörperhäophilie (DEUTSCH)
Christmas-Faktor IX	Christmas Disease (MACFARLANE) B. (Weitere Fälle von AGGELER et al., CRAMER et al., POOLE, KOLLER)	
Thrombocyten (Plättchenfaktoren)	Thrombopathien a) Hereditäre haemorrhagische Thrombasthenie (GLANZMANN) b) Konstitutionelle Thrombopathie (v. WILLEBRAND-JÜRGENS) Essentielle Thrombopenie (Morbus WERLHOF)	Symptomatische Thrombocytopenien bzw. Thrombopathien

Tabelle 6. Gerinnungsfaktoren der Thrombocyten.

Name	Synonyma	Allgemeine Eigenschaften und Funktionen	Wasserlöslichkeit	Fällung mit	Sedimentierung in Ultrazentrifuge	Hitzebeständigkeit	Adsorption
Plättchen-Accelerator 1.	Platelet accelerator Platelet factor 1	Wirkung auf die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin ähnlich z. B. Faktor V	löslich	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50%	sedimentiert bei 32000 g in 30 min	weitgehend zerstört bei 53°	nicht an BaSO_4 oder $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Thrombin-Accelerator 2.	Platelet factor 2 (SEEGERS)		löslich	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50%	sedimentiert nicht bei 32000 g in 45 min resp. 43000 g in 20 min	bei 53° in 30 min kein Verlust	adsorbiert an BaSO_4 und $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Heparin-Inhibitor 3. (JÜRGENS-DIALER)	Platelet factor 3 (v. CREVELD)	Phosphatid, das die Antithrombinwirkung von Heparin hemmt nach v. CREVELD, STEFANINI und FEISLY eventuell identisch	unlöslich	/	sedimentiert nicht bei 43000 g in 20 min	beständig bei 53° in 30 min	nicht an $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ oder BaSO_4
Plättchenfaktor der Thrombokinasen 4.	Platelet thromboplastic factor (STEFANINI) Thromboplastinogenase (QUICK), Platelet Agglutinin (JOHNSON et al.), TCC = thromboplastic cell component (SHINOWARA)	Bildet mit einem od. mehreren Plasmafaktoren zusammen die aktive Plasma-Thrombokinasen	unlöslich	/	sedimentiert bei 32000 g in 30 min resp. 43000 g in 20 min	relativ beständig bei 56° zerstört bei 53° in 30 min	?

bei 32'000 g innerhalb 45 Minuten, und ist durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat fällbar.

Die Thrombocyten enthalten mithin mehrere gerinnungsaktive Substanzen, die in der Vorphase der Gerinnung frei werden. Offenbar entspricht die mit der Ultrazentrifuge von uns (DIALER) erhaltene Fraktion des Thrombocytenextraktes der eigentlichen Thrombokinasaktivität;

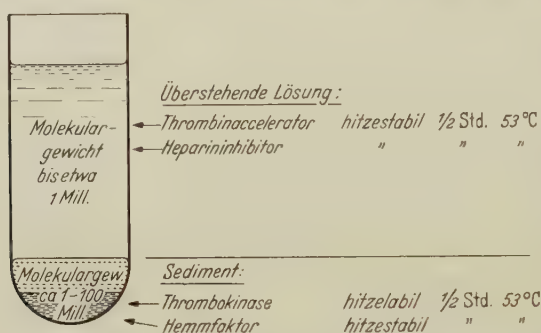


Abb. 2. Fraktionierung von Thrombocyten-Extrakt mit der Ultrazentrifuge. (20 Minuten bei 120'000 g [= Erdschwere]. Vorbehandlung: 20 Minuten bei 5'000 g.)

sie wird von uns als *Thrombocytenfaktor der Thrombokinas* bezeichnet. Anscheinend ist sie identisch mit der Thromboplastinogenase von QUICK¹²⁸ und dem TCC-Faktor von SHINOWARA¹⁴⁹.

b) Die Gewebsthrombokinas.

Gewebsthrombokinas bedarf zur Entfaltung ihrer Wirkung keines Plasmafaktors, sie besteht ebenfalls aus Lipoid- bzw. Phosphatid-Eiweißkomplexen. Andererseits soll Gewebsthrombokinas (Gehirnextrakt) nach MACFARLANE und BIGGS¹⁴ ihre volle Wirkung erst nach Inkubierung mit Plasmafaktoren (V, VII) erreichen. ANDRÉ STUDER¹⁵³ konnte aus Rinderlunge-Thrombokinas einen unwirksamen Eiweißanteil von einer schwach wirksamen Lipoidfraktion abtrennen und durch Mischung beider Fraktionen wieder die ursprüngliche Thrombokinasaktivität zurückerhalten. Kephalin nimmt mit zunehmender Reinigung an Wirksamkeit ab (FISCHER und HECHT⁴⁵). Cerebroside, Fettsäuren und andere sind wirkungslos. Nach CHARGAFF²¹ enthält die Thrombokinas eine Mischung von leichter oder schwerer löslichen Phosphatidfraktionen. Als Abbauprodukte wurden Glycerin-Phosphorsäure, Palmitin-, Stearinsäure, ungesättigte Fettsäuren und Cholin erhalten. Physikalisch fand CHARGAFF²² in Boratpuffer ein pH von 7,6, ein Molekulargewicht von 167'000'000. Im Eiweißrest waren 13,4% N, 0,4% Phosphor und 1% Aminosucker enthalten. Die Teilchen der Thrombokinas bestehen aus wechselnden Lagen von Lipoiden und Eiweiß, die von Wasser eingehüllt sind.

c) Artspezifität der Thrombokinase.

Thrombokinase haben eine gewisse Artspezifität, die an die Eiweißkomponente gebunden ist. So ist z. B. Thrombokinase aus menschlichem Hirn auf Menschenblut erheblich aktiver als Rinderthrombokinase. Das gleiche gilt für die verschiedenen Tierarten (QUICK¹²⁷). Durch Inkubation der einzelnen Thrombokinase mit Plasmafaktoren (V, VII) läßt sich die Artspezifität zum Verschwinden bringen. Für die Bestimmung der Prothrombinzeit ist dies zu beachten. Zu hohe Konzentrationen von Thrombokinase (besonders aus Gehirn), hemmen die Gerinnung, was anscheinend durch einen Hemmstoff verursacht wird, den z. B. auch wir (JÜRGENS⁸²) im Sediment wäßriger ultrazentrifugierter Thrombokinaseextrakte feststellen konnten.

d) Abbau.

Zerstört wird Thrombokinase durch proteolytische Fermente, z. B. Pepsin und Trypsin (BAYERLE und MARX⁹), sie wird durch Hyaluronidase gehemmt (FIALA u. Mitarb.⁴¹).

e) Verabreichungsformen der Thrombokinase.

Thrombokinase ist in kleinen Mengen *oral verabreicht* unwirksam, da sie sofort im Magen und Darm durch die Verdauungsfermente abgebaut wird. Eine *lokale hämostyptische* Wirkung von Thrombokinase ist durch Messung der Nachblutung aus kleinen Schnepmereinstichen an der Leberoberfläche des narkotisierten Kaninchens nachweisbar. Von Bedeutung ist diese Wirkung zur Stillung von lokalen Blutungen, namentlich bei Hämophilie, wo früher rohes Muskelfleisch, rohe Lungenstückchen, Schilddrüsengewebe oder rohe Milch wegen ihres Thrombokinasegehaltes aufgelegt wurden.

Intravenöse Injektion beim Kaninchen führte bei größerer Konzentration und rascher Injektion (z. B. 5 ccm einer gesättigten Aufschwemmung von Thrombokinase „Roche“) in wenigen Minuten zum Tode des Versuchstieres durch intravasale Gerinnung (Herzkammertamponade oder Gerinnsel). Injizierten wir Kaninchen (JÜRGENS und STUDER, ALFRED⁸⁸) Thrombokinase in niedrigen Konzentrationen sehr langsam (1 ccm pro Minute, 2 Stunden), so trat der Tod nicht ein, sondern das Blut wurde durch Ausflockung feinsten Fibrinteilchen ungerinnbar. Fibrinogen war nicht mehr nachweisbar, während das Prothrombin nur wenig abgenommen hatte. Ähnliches haben COPLEY und CONLEY beobachtet, die nach Thrombokinaseinjektionen verlängerte Prothrombinzeit, Absinken der Thrombocytenzahl und verminderte Heparintoleranz fanden (COPLEY²⁵, CONLEY u. Mitarb.⁶⁰). Intravenöse Injektion von sehr verdünnten sterilen Thrombokinaseaufschwemmungen wirkt allgemein blutstillend^{137, 141}.

2. Das Thrombin (*chemische Beschaffenheit*).

Synonym: Fibrinferment (SCHMIDT^{138, 139}), Thrombase.

Das Thrombin ist ein Eiweißkörper mit Fermentnatur, leicht löslich, in Wasser fällbar mit 45% Ammoniumsulfatlösung. Chemisch ist es ein Glucoprotein und enthält 0,96% Schwefel, 13,57% Stickstoff, 4,58% Tyrosin, 3,33% Tryptophan (SEEGERS u. Mitarb.¹⁴⁸). Seiner Wirkung nach ist Thrombin eine allein auf Fibrinogen wirkende Denaturase, mit einem Wirkungsoptimum bei 37° C und pH 7,2 sowie dem isoelektrischen Punkt bei 4,7. Es wird bei 50° C innerhalb weniger Minuten zerstört. Seine Fermentnatur ist namentlich durch die Arbeiten von WÖHLISCH¹⁶⁸ bestätigt worden. Es wird durch Säuren und Alkali leicht zerstört, ebenso durch Schwermetalle, und ist imstande, große Mengen von Fibrinogen in Fibrin umzuwandeln. Der Quotient beträgt nach WINTERSTEIN 1:50'000—100'000, d. h. 1 mg Thrombin vermag 50—100 g Fibrin zu bilden (WINTERSTEIN¹⁶⁷). Kürzlich wies LORAND^{106, 107} nach, daß bei der Fibrinbildung durch Thrombin aus Fibrinogen ein Polypeptid abgespalten wird.

Thrombin beschleunigt in vitro die Fibrinolyse (SCHULTZE und SCHWICK¹⁴³) und bewirkt auch den Zerfall der Thrombocyten sowie die Konglutination von Erythrocyten (WYSS¹⁷⁴). Es wirkt bis zu einem gewissen Grade spezifisch, denn Säugetierplasma gerinnt durch Lösungen von Säugetier-Thrombin schneller als Vogel- oder Kaltblüterplasma (BURSTEIN¹⁹). Die Wirksamkeit des Thrombins wird in Einheiten ausgedrückt.

a) Internationale Thrombineinheit.

1 Thrombineinheit [NIH-Einheit (National Institute of Health)] ist diejenige Menge von Thrombin, die 1 ccm einer standardisierten Fibrinogenlösung in $15 \pm 0,5$ Sekunden bei $28 \pm 1,0^\circ \text{C}$ zur Gerinnung bringt¹¹⁸, oder — neuerdings —, die 1 ccm einer 1%igen Lösung von Fraktion I nach COHN von Menschen bei 45° C in 45 Sekunden zur Gerinnung bringt. 1 Einheit nach MELLANBY entspricht derjenigen Menge Thrombin, die 1 ccm Rinderoxalatplasma in 30 Sekunden bei 38° C zur Gerinnung bringt. Thrombin läßt sich aus Plasma gewinnen, so daß es in mehreren Präparaten in hoch aktiver Form im Handel ist.

b) Verabreichungsart und Wirkung des Thrombins.

Die lokale Anwendung von Thrombin auf blutende Wunden bewirkt Gerinnung des austretenden Blutes in wenigen Sekunden. Wir haben diese lokale hämostyptische Wirkung des Thrombins an der Leberoberfläche des narkotisierten Kaninchens durch Bestimmung der Blutungszeit aus kleinen Wunden nach Auftupfen von Thrombinlösung gemessen. Die Prüfung von Substanzen auf gerinnungsaktive und hämostyptische

Eigenschaften geschieht nach ROSKAM und PAUWEN¹³⁵, FLEISCH und TRIPOD⁴⁸ mittels der Blutungszeit am Kaninchenohr, nach DÖTTL und RIPKE³⁸ am Mäuseschwanz. Wir entwickelten ebenfalls an der Maus eine für Reihenuntersuchungen gedachte Apparatur, bei der die Blutungszeit an der in Ringerlösung eingetauchten und beleuchteten Schwanzspitze bei konstanter Temperatur gemessen wird. Mit steigenden Dosen Heparin bzw. Dicumarol läßt sich eine zunehmende Verlängerung der Blutungszeit, mit Adrenalin i. v. (0,05 mg/kg) eine Verkürzung zeigen (JÜRGENS, R., und STUDER, ALFRED⁸⁹) (Abb. 3).

Intravenöse, schnelle Injektion von Thrombinlösungen hat den sofortigen Tod der Versuchstiere durch intravasale Gerinnung zur Folge (ASTRUP u. VOLKERT⁸, MELLANBY¹¹⁶, VERSTRATE und VERWILGHEN¹⁵⁹), wozu 150—300 Thrombineinheiten genügen (REINERT, sowie JÜRGENS und STUDER^{86, 87}).

Wir injizierten nun (mit ALFRED STUDER⁸⁷) Kaninchen sehr langsam (20 Tiere) hochverdünnte Thrombinlösungen unter Benutzung des Infusionsapparates nach STRAUB¹⁵² ($\frac{1}{2}$ ccm/Minute Thrombinlösung

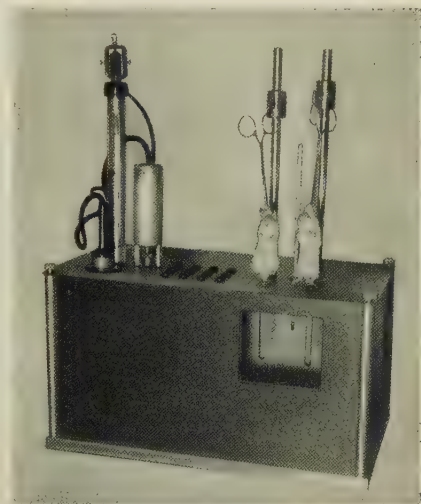
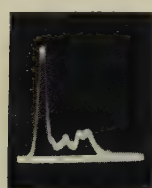


Abb. 3. Apparat zur Bestimmung der Blutungszeit an der Maus (nach JÜRGENS, R., u. A. STUDER⁸⁹).

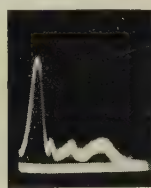
Kaninchenplasma vor und nach intravenöser Thrombininfusion



gerinnbar



ungerinnbar



wieder gerinnbar

Abb. 4.

Plasmaanalyse:

Albumin	58,0	58,8	55,1
α	6,4	8,6	9,1
β	11,9	11,2	13,2
Fibrinogen	12,1	—	11,4
γ	11,6	21,4	11,3

Elektrophoretische Plasma-Analyse von Kaninchenplasma I vor, II $\frac{1}{2}$ Std nach und III 2 Std nach intravenöser Thrombininfusion. Bei I und II Fibrinogen-Zacke sichtbar, bei II fehlende Fibrinogen-Zacke.

1:3'000), 2 Stunden Infusion i. v. Jugularis (Topostasin „Roche“). Zu unserem Erstaunen blieben die Tiere am Leben und ihr Blut blieb etwa während 2 Stunden völlig ungerinnbar. Die nähere Untersuchung ergab, daß eine völlige Defibrinierung des Blutes, eine experimentelle *Fibrinogenopenie* eingetreten war, die 2 Stunden nach der Injektion durch Ergänzung des Fibrins wieder behoben war. Halbsättigung mit Ammoniumsulfat ergab keine Fibrinogenfällung. Die elektrophoretische Plasmaanalyse zeigte bei Darstellung der absteigenden Grenzsichten das Fehlen der Fibrinogenzacke, die 2 Stunden nach beendeter Infusion

wieder vorhanden war (ausgeführt von VIOLLIER, Med. Klinik, Basel, Prof. STAUB).

Aus der beigegebenen *Kurve* geht das Absinken des Fibrinogens nach Thrombininfusion und sein Wiedererscheinen etwa 2 Stunden nach Absetzen der Infusion hervor.

Die Bestimmung der Gerinnungszeit durch Zusatz einer konstant gehaltenen Thrombinmenge gibt den jeweils vorhandenen Fibrinogengehalt des Blutes an.

Histologische Untersuchung der Organe zeigte eine Ablagerung des Fibrins in den parenchymatösen Organen. Es ließ sich mit der WEIGERTSchen Fibrinfärbung in den Kapillaren der Lungen, der Leber, der Nierenglomerula und im Plexus chorioideus des Gehirns nachweisen

(STUDER, ALFRED), wohin die aus Fibrinogen successive entstandenen Fibrinflocken embolisch verschleppt worden waren (Abb. 6, 7).

Kürzlich hat NOLF¹²⁰ diese Untersuchungen am Hund bestätigt und gezeigt, daß man nach besonders langsamer Injektion das Fibrin nicht einmal in Flocken in den Organen nachweisen kann.

Diese Versuche geben auch Aufschluß über den Abbau des Thrombins in vivo, ein Problem, das hinsichtlich der Entstehung von Thromben nach Operationen durch Resorption von Thrombin aus Wunden viel diskutiert wurde, und wofür mit besonderen Methoden die Abbaugeschwindigkeit von Thrombin in vitro gemessen wurde. Nun gelingt aber der Nachweis infundierten Thrombins im strömenden Blut nur wenige Minuten nach Sistieren der Infusion. Ein Vergleich des Thrombinabbaus in vivo und in vitro ergibt, daß die Inaktivierung im lebenden Organismus um ein

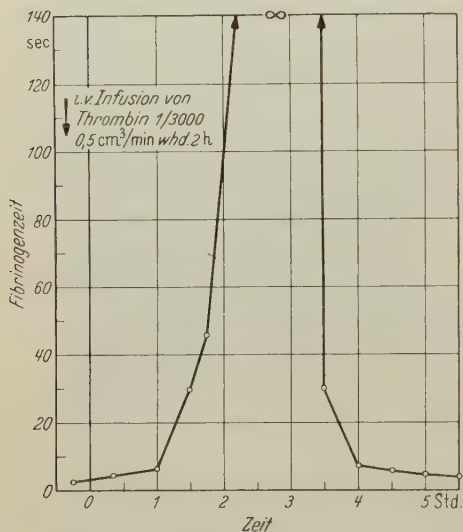


Abb. 5. Das Fibrinogen verschwindet nach Thrombin-Infusion und erscheint 2 Std nach Absetzen der Infusion wieder.

Vielfaches schneller als in vitro erfolgt, so daß von dem in vitro erfolgten Abbau nicht ohne weiteres auf den Thrombinabbau im lebenden Organismus geschlossen werden darf.



Abb. 6. Lunge (Kaninchen). Hämalaun-Eosin, Vergr. 360fach. 5 Std nach Thrombin-Infusion ($\frac{1}{2}$ cm³ pro min Thrombin 1:3000 während 2 Std). Die Kapillaren sind reichlich mit Leukocyten angefüllt. Bei den eosinophilen Massen handelt es sich um Fibrin.

c) Antagonistische Wirkung gegen Heparin.

Thrombin wirkt im Organismus als Antagonist des Heparins. Dies zeigt folgender Versuch: intravenöse Injektion von 5 bzw. 10 mg/kg Heparin verhindert eine Gerinnungsbildung durch nachfolgend infundiertes

Thrombin. Heparinisierte Tiere überleben, im Gegensatz zu allein mit Thrombininfusionen in hohen Dosen behandelten Tieren (JÜRGENS und STUDER^{86, 87}).

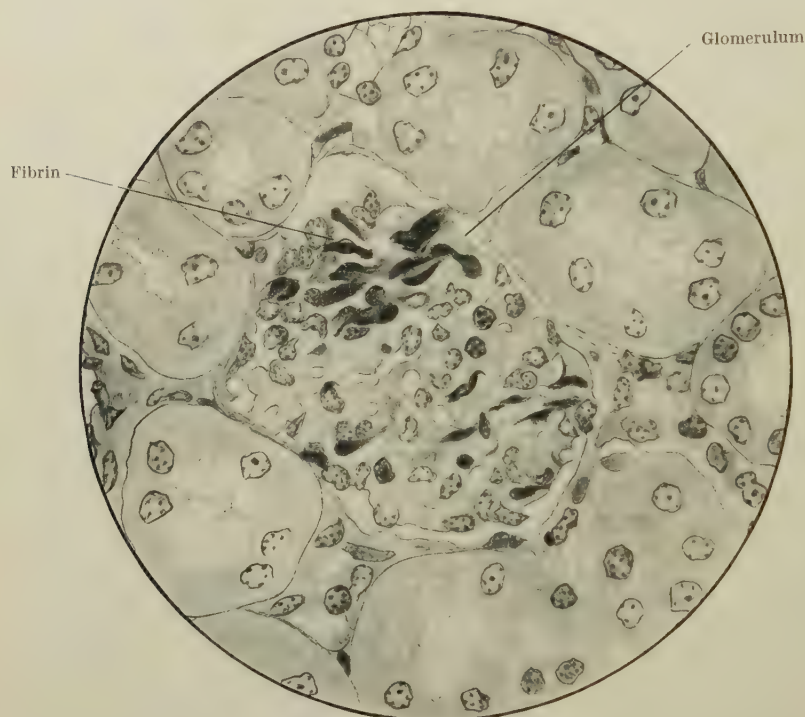


Abb. 7. Niere (Kaninchen). WEIGERTSche Fibrinfärbung, Vergr. 800fach. 4 Std nach Thrombininfusion (1:3000, $\frac{1}{2}$ cm³ pro min während 2 Std). In den Kapillarschlingen des Glomerulum ist Fibrin nachweisbar.

Tabelle 7. Antagonistische Wirkung von Thrombin gegen Heparin nach i.v. Injektion von Heparin und nachfolgend infundiertem Thrombin. Gerinnsel- bzw. Thrombenbildung durch Thrombin wird durch Heparin verhütet, heparinisierte Tiere überleben.

Kaninchen Nr.	Heparin mg/kg	Thrombin- infusion Th. E./cm ³	Total infundierte Th. E.	Überlebt min	Gestorben nach min
53	5	300	3300	—	22
111	5	300	5475	—	36 $\frac{1}{2}$
193	5	300	9000	> 2 Tage	—
199	10	300	9000	—	63
194	10	300	9000	> 2 Tage	—
187	10	300	9000	> 2 Tage	—
108	—	300	450	—	3
59	—	300	412,5	—	2 $\frac{3}{4}$
105	—	300	450	—	3

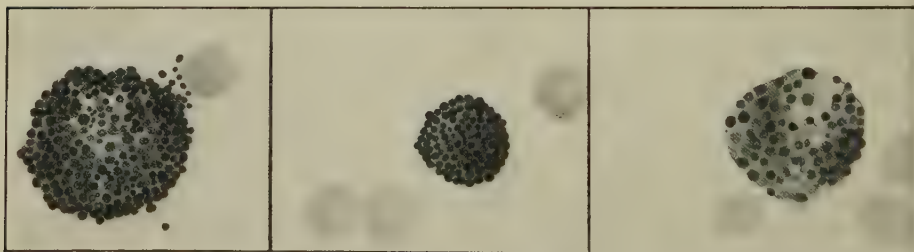
Heparin ist leicht wasserlöslich, hitzestabil (bis zu 120°C) und daher sterilisierbar: als Verbindung mit stark sauren Gruppen ist es fällbar durch Protamine, Histone, basische Farbstoffe (Toluidinblau u. a.) und kann als Bariumsalz kristallisiert werden.

Nach JORPES⁷⁷ und JAUQUES⁷³ unterscheiden sich die Heparine der einzelnen Tierarten in ihrem chemischen Aufbau und in ihrer Wirkung auf die Gerinnung. WINTERSTEIN und MARBET^{112a, 112b} konnten neuerdings eine ganze Reihe derartiger Heparine mit verschiedenem Antithrombintiter isolieren. Sie gewannen eine als β -Heparin bezeichnete Substanz mit geringer Wirkung und kleinerem Schwefelgehalt als α -Heparin. Die β -Heparine enthalten als Aminosuckerkomponente *nicht Glucosamin, sondern Galaktosamin*. Heparin aus Hundeleber hat den höchsten und α -Heparin-monoschwefelsäureester sowie β -Heparin aus Rinderlunge den niedrigsten Antithrombintiter (siehe auch VAN CREVELD u. Mitarb.³⁰, ALLEN u. Mitarb.³, ALBRECHT und DRESSLER²). Für die gerinnungshemmende Wirkung ist neben der Molekülgröße und dem Schwefelgehalt wahrscheinlich auch die Bindungsart der Schwefelsäure von Bedeutung. Dabei verstärkt die NHSO_3Na -Gruppe die Wirkung noch besonders.

a) Vorkommen.

Heparin findet sich in der Leber, in der Leberkapsel, in den Gefäßwänden, in Lungen und Darm, und zwar in den basophilen Granula der Mastzellen. Mastzellentumoren sind besonders reich an Heparin (JORPES⁷⁷ und JAUQUES⁷³). Ob Heparin als physiologischer Bestandteil im Blut vorkommt, ist wahrscheinlich, aber nicht sicher (JAUQUES⁷¹). Vermehrt ist es beim anaphylaktischen Schock, auch im Menstrualblut. Im Augenkammerwasser findet es sich physiologischerweise nicht (OERI¹²¹).

Metachromatische Kugelhäufen



Zelle 1: Heparin-Speicherung

Zelle 2: ungespeicherte Zelle

Zelle 3: ausgelaugte, granulaarme Zelle

Abb. 9. Heparin-Speicherzellen aus der Peritoneal-Flüssigkeit der Ratte nach Heparininjektion (nach JÜRGENS und SCHÜRER).

b) Speicherung, Abbau, Ausscheidung.

Heparin wird nach JORPES, WILANDER und HOLMGREEN⁷⁹ in den Mastzellen gespeichert. Wir konnten gemeinsam mit SCHÜRER^{144*} zeigen,

* Mit Hilfe der Toluidinblaureaktion.

daß die aus dem Retikuloendothel des Peritoneums stammenden basophilen Kugelzellen der Ratte, die sogenannten „Heparinspeicherzellen“, injiziertes Heparin speichern.

Mit steigender Menge des injizierten Heparins wächst die Zellzahl, und schließlich wird das gespeicherte Heparin aus diesen Zellen wieder abgegeben.

Die Wirkung der Heparine auf die Blutgerinnung ist gebunden an Eiweißkörper als Träger (Co-Faktoren); allein ist Heparin unwirksam.

c) Heparin-Co-Faktoren.

Der sogenannte *Co-Faktor I* (Synonym: Heparinkomplement, Heparin-Co-Inhibitor) ist nach LOOMIS¹⁰⁵ ein Globulin, das in Fraktion III = 3 von Cohn enthalten ist. Er bildet mit dem Heparin das *Heparin-Antiprothrombin*, das von dem im wesentlichen aus Albumin bestehenden *Serumantithrombin* verschieden ist (siehe Gerinnungsschema, S. 114, Abb. 1). *Co-Faktor II*, der anscheinend der Albuminfraktion angehört, bildet mit Heparin das *Heparin-Antithrombin*.

Andere Co-Faktoren sind in den *Plättchen* (*Heparin-Inhibitor*) sowie im Plasma (*Klärfaktor* auf lipämisches Plasma) vorhanden.

Anscheinend werden die für die Heparinwirkung notwendigen Co-Faktoren bei schwerer Schädigung der Leber bzw. des Retikuloendothels ungenügend gebildet, so daß injiziertes Heparin in solchen Fällen die Gerinnung weniger hemmt. Hierauf beruhen die Heparintoleranzteste, die als klinische Methoden zur Erkennung von Leberschädigung, Thrombosebereitschaft, zur Kontrolle der Heparin- oder Dicumaroltherapie (bei gleichzeitiger Schädigung der Prothrombin- und Faktor VII-Bildungsstätten in Leber und Retikuloendothel) gegenwärtig häufig herangezogen werden (KOLLER⁹⁸, DE TAKATS¹⁵⁶, HAGEDORN und BARKER⁵⁶, SIGG¹⁵⁰). Allerdings scheint Mangel an Co-Faktor allein nicht für die Erklärung der verminderten Heparinwirkung auszureichen. Konnte doch USTERI¹⁵⁸ unter Leitung von KOLLER zeigen, daß der Heparin-Co-Faktor stets im Plasma in genügender Menge vorhanden ist, um bei Sättigung mit Heparin Ungerinnbarkeit zu erzielen. So wird an Verdrängung des Heparins aus seiner Bindung mit dem Co-Faktor oder an Veränderungen des Co-Faktors selbst, schließlich an vermehrten Abbau des Heparins (Heparinase) gedacht. Hier ist noch vieles zu klären.

d) Wirkung auf die Gerinnungsphasen.

Heparin greift in die *Gerinnungsvorphase* als *Antithrombokinese*, in die 1. *Gerinnungsphase* als *Antiprothrombin* und in die 2. *Gerinnungsphase* als *Antithrombin* hemmend ein. Die Gerinnungsfaktoren werden durch Heparin nicht verändert. Beweis: Protaminsulfat, das Heparin ausfällt, stellt die ursprüngliche Gerinnungsfähigkeit sofort wieder her. Heparin verzögert auch die *Retraktion* und fördert die *Fibrinolyse*.

Die *Neutralisierung von Thrombokinase* durch Heparin war schon HOWELL bekannt. Sie steigt mit der Dauer der Berührung beider Substanzen. Antithrombokinasewirkung und Antithrombinwirkung verschiedener Heparine laufen nicht miteinander parallel (MALTANER¹¹⁰).

Die *Antithrombinwirkung* des Heparins ist durch Titration mit Thrombin nachweisbar. Sie wird zur Bestimmung des Heparins angewandt. Die Wirkung des Heparins auf Beschleunigung der Fibrinolyse ist noch nicht sichergestellt.

e) *Bestimmung der Aktivität.*

Die Wirksamkeit der Heparine wird in internationalen Einheiten ausgedrückt. Ein Milligramm entspricht 130 I. E. und eine I. E. 7,8 γ der internationalen Standardsubstanz.

Bestimmungsmethoden.

Die quantitative Bestimmung des Heparins kann mit verschiedenen Methoden geschehen, so, nach einer Übersicht von JORPES⁷⁸, mit *unverändertem Frischblut*^{25, 63, 67, 72, 75, 125, 145, 146, 165}, mit *heparinisiertem Plasma*³³ und Thrombokinas Zusatz, mit *Vogelplasma* und *Gewebeextrakten*^{7, 23, 47, 72}, mit *Recalcifizierung*^{49, 50, 51, 52, 74, 100, 103, 111, 126, 131, 155}, mit *Thrombin*^{72, 92, 117, 147, 154} und schließlich durch *physiko-chemische Bestimmungsmethoden*^{10, 26, 42, 43, 57, 109, 119, 130, 136, 140, 157, 166}.

Die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins kann mit diesen Methoden durch Bestimmung der totalen Gerinnungshemmung (Endpunkt-methode) oder durch Ermittlung der Gerinnungsverzögerung (Verzögerungseffekt) festgestellt werden. Der biologischen Wirkung entsprechen am besten die Thrombinbestimmungsmethoden. ANDRÉ STUDER und A. WINTERSTEIN¹⁵⁴ haben eine Thrombintitrationsmethode entwickelt, bei der die durch Zusatz konstanter Mengen Thrombins bewirkte Gerinnungszeit von Citrat- bzw. Oxalatplasma durch Zugabe steigender Mengen von Heparin verlängert wird (Bestimmung des Verzögerungseffektes). Von uns (JÜRGENS, unveröffentlicht) wurde eine „Endpunkt-methode“ ausgearbeitet, mit welcher unter Verwendung von Rinderplasma die totale Gerinnungshemmung nach 15 min bei 37°C bestimmt wird. Die Heparinverdünnungen werden in verschiedenen Abstufungen auf gerinnungshemmende Wirkung gegen eine eingestellte Thrombinlösung geprüft.

Beide Methoden wurden von H. R. BOLLIGER mit verschiedenen Heparinpräparaten verglichen. Es fand sich Übereinstimmung in bezug auf Genauigkeit und Leistungsfähigkeit bei täglicher Bestimmung von 25 Präparaten auf $\pm 5\%$ genau.

Die physiko-chemischen Methoden (Fällung, U.V.-Absorptionsmessung) geben Resultate, die in keiner Beziehung zur gerinnungshemmenden Aktivität stehen.

f) Wirkung des Heparins auf die Thrombusbildung.

Einleitend wiesen wir darauf hin, daß die Bildung von Thromben durch gesteigerte Haftfähigkeit und Agglutination der Thrombocyten bedingt ist. Wie beeinflußt nun Heparin diese für die Thrombose-Genese wichtigen Thrombocytenfunktionen?

Wirkung auf Haftfähigkeit und Agglutination der Thrombocyten. Die *Haftfähigkeit der Thrombocyten* haben wir mit der von H. P. WRIGHT^{170, 171} angegebenen Apparatur geprüft und nach Heparinzusatz zu Thrombocytenaufschwemmungen eine verminderte, mit Histamin eine vermehrte Haftfähigkeit gefunden. Nach J. S. WRIGHT¹⁷² wird die Plättchenadhärenz auf anziehende und abstoßende Kräfte zwischen Gefäßwand, Blutflüssigkeit und Blut-elementen zurückgeführt, die mit dem sogenannten Zeta-Potential definiert werden. Heparin, als stark geladenes Anion, erhöht die negativen Potentiale des Blutes.

Auch für die *Agglutination der Thrombocyten* sind derartige Kräfte wirksam, sie werden ebenfalls durch Heparin beeinflußt. Wir wiesen nach, daß Antikoagulantien (besonders Citrat und auch Heparin) in geringer Konzentration die Thrombocytenagglutination hemmen, und zeigten, daß auch in Gegenwart von Heparin, das die Fibrinbildung verhindert, Thrombocytenagglutination eintritt, wenn Histamin oder Bakterientoxine zu den heparinhaltigen Thrombocytenaufschwemmungen gegeben werden. Sie verändern offenbar die elektrischen Potentiale. Die Thrombocytenagglutination ist also unabhängig von der Fibrinbildung. Die Messung der Thrombocytenagglutination wurde photometrisch (Lumetron) durchgeführt, nachdem wir beobachtet hatten, daß die Lichtdurchlässigkeit mit zunehmender Agglutination wächst (JÜRGENS und BRAUNSTEINER⁸⁵) Abb. 10.

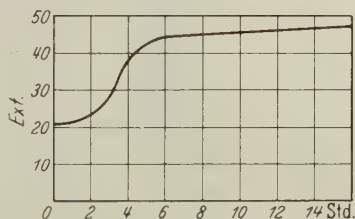


Abb. 10. Photometrische Messung (Lumetron) der Thrombocytenagglutination in einer Plättchenaufschwemmung nach Zusatz von Heparin (nach JÜRGENS und BRAUNSTEINER). Abszisse: Extinction, Ordinate: Zeit in Stunden.

Durch elektronenmikroskopische *Aufnahmen* mit BRAUNSTEINER konnte das Fehlen von Fibrin bzw. Profibrin an in Gegenwart von Heparin durch Histamin agglutinierten Thrombocyten bewiesen werden (Abb. 11). Heparin verhindert durch die genannten Wirkungen auf Adhärenz und Agglutination der Thrombocyten, vor allem durch Hemmung der Fibrinestehung, die Thrombenbildung.

g) Toxizität.

Die Toxizität von Heparin ist sehr gering, 1 g intravenös wird von Kaninchen ertragen.

Blutungen nach Heparininjektionen treten spontan, ohne Gefäßtrauma, auch dann nicht auf, wenn das Blut selbst längere Zeit infolge wiederholter Injektionen ungerinnbar ist, wie wir schon 1926 mit dem von HOWELL erhaltenen Heparin an der Klinik von MORAWITZ zeigen konnten. Allein mit Heparin ist dies möglich; alle andern Antikoagulantien verursachen spontan mehr oder weniger Gefäßalteration.



Abb. 11. Durch Zusatz von Histamin $0,1\frac{0}{00}$ in Gegenwart von Heparin agglutinierte Thrombocyten. Elektronenmikrosk. Aufnahme, Vergrößerung 8000fach (nach JÜRGENS und BRAUNSTEINER).

Auch bei häufiger Heparinbehandlung kann es zu Blutungen kommen, da Traumen oder toxische Einflüsse schwer vermeidbar sind, die Gefäßalterationen verursachen.

h) Ausscheidung von Heparin.

Heparin wird relativ kurze Zeit nach der intravenösen Injektion (etwa nach 4—6 Std) wieder ausgeschieden (20—50%), der Rest wird im Organismus durch Heparinase (JAQUES⁶⁹) abgebaut. Im Harn findet sich eine weniger gerinnungsaktive Fraktion mit kleinerem Molekulargewicht (BEST und JAQUES¹¹, MARBET und WINTERSTEIN¹¹²).

Andere pharmakologische Wirkungen.

i) Gefäßwirkung.

Heparin soll eine schwach *gefäßdilatierende Wirkung* (AHLQUIST¹) am Uterus besitzen und besonders die Coronargefäße erweitern (NALEFSKI und Mitarb.⁵⁴).

Nach kürzlich durchgeführten Untersuchungen unserer Mitarbeiter B. PELLMONT und H. BÄCHTOLD über die Kreislaufwirkungen von Heparin mit hohen Dosen (bis 100 mg/kg und mehr) fanden sich häufig Blutdrucksenkungen (blutige Messung an der Carotis) und Zunahme der Durchblutung in den größeren Gefäßen bei Bestimmung mit der REINschen Thermostromuhr.

Am experimentellen, mit einem kristallbildenden Sulfonamid erzeugten Hochdruck der Ratte bewirkte Heparin subcutan Blutdrucksenkung. Diese experimentellen Befunde entsprechen den kürzlich von KELLER⁹¹ beschriebenen Senkungen des Hochdrucks des Menschen nach Injektion von Heparin.

k) Wirkung auf ACTH.

Nach REISS¹³² inaktiviert Heparinplasma Adrenocorticotropin (ACTH). WEISSBECKER und HITZELBERGER^{162, 163} bestätigten dies und konnten nachweisen, daß Heparin auch den ACTH-Effekt auf die eosinophilen Leukocyten, den Blutzucker und die Brenztraubensäure aufhebt. KÖHLER⁹⁴ und Mitarbeiter konnten umgekehrt am Institut von WÖHLISCH zeigen, daß ACTH die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins aufhebt. Die bei der ACTH-Therapie häufig eintretenden Thrombosen können vielleicht durch ein gestörtes Mengenverhältnis von ACTH und Heparin verursacht werden. Beim „Stress“ werden Heparin und ACTH vermehrt ausgeschüttet, auch ist die Gerinnungszeit nach Verabreichung von ACTH häufig verkürzt (COSGRIFF u. Mitarb.²⁷). Hier sind durch weitere Untersuchungen noch Aufschlüsse über die Thromboseentstehung zu erwarten.

Einfluß auf Fermente. Heparin hemmt die Wirkung von Trypsin (HORWITT⁶¹, ROCHA u. Mitarb.¹³⁴), Ribonuclease und Hyaluronidase, es wirkt auch gering bakteriostatisch (STOCKER¹⁵¹) und verzögert Zellbildung in Gewebekulturen (FISCHER^{44, 46}, JAKES⁷⁰) von Seeigeln (DRUCKREY⁵³, ZAKRZEWSKI¹⁷⁵) und Froscheiern (HARDING⁵⁹).

l) Wirkung auf den Lipidstoffwechsel.

Kurz angedeutet sei noch der Einfluß von Heparin auf Arteriosklerose, Angina pectoris und Herzinfarkt. Heparin wirkt anscheinend als Netzmittel, vermag die Chylomikronen des Blutes zum Verschwinden zu bringen (Kläreffekt von Heparinplasma auf lipämisches Plasma) und verhütet die Einlagerung von Cholesterin und Fetten in die Gefäßwände. β -Heparin hat keine Klärwirkung (JÜRGENS). Nach den bisherigen Berichten scheinen gewisse Erfolgsaussichten für die Therapie zu bestehen, doch ist diese Frage noch nicht spruchreif.

m) Klinische Anwendung als Antikoagulans.

Heparin wird zur Therapie und Prophylaxe bei *Thrombose* und *Embolie* angewandt.

Verabreichungsart. Heparin kann nur parenteral verabreicht werden, es wirkt am schnellsten und stärksten bei intravenöser Injektion. Per os ist es unwirksam. Intramuskuläre Injektion von Heparin als Depot wird namentlich in der Frauenheilkunde angewandt (v. WATTENWYL), wobei aber leichte Hämorrhagien in der Umgebung von Einstichstellen in Kauf genommen werden. Auch Dauerinfusionen werden in schweren Fällen vorgenommen.

n) Dosierung.

In vitro halten etwa 200 I. E. Heparin 100 ccm menschliches Blut ungeronnen. In vivo setzen 12'500 I. E. Heparin (z. B. 2,5 ccm Liquemin) intravenös die Blutgerinnung deutlich während 4—6 Std herab. Für die intravenöse Applikation werden meist Lösungen mit 5'000 I. E./ccm, für die intramuskuläre solche von 20'000—40'000 I. E./ccm verwendet. Für die Thrombose- und Embolie-Therapie werden mehrere Tage täglich 40'000—80'000 I. E. Heparin verabreicht.

Kontrolle der Heparinwirkung. Zur Kontrolle der Heparintherapie wird die Gerinnung von Vollblut oder die Antithrombinzeit nach QUICK bestimmt.

o) Protaminsulfat.

Zur Neutralisierung der Heparinwirkung wurden 1%ige Lösungen von Protaminsulfat intravenös injiziert. Die Protamine fällen das Heparin und bilden unlösliche Salze, die keine Wirkung auf die Blutgerinnung besitzen. Die Wirkung von Depotheparin wird durch intramuskuläre Injektionen 5%iger Protaminlösungen aufgehoben.

4. Die Heparinoide.

Wegen der schweren Zugänglichkeit des Heparins aus Organen und seines hohen Preises wegen wurde versucht, Heparin durch synthetische oder halbsynthetische Präparate zu ersetzen.

Durch Sulfurierung von Kohlehydraten und ihren Abbauprodukten (z. B. Cellulose, Xylane, Dextran, Pektin) werden gerinnungshemmende Verbindungen erhalten. Sulfurierte Xylane (HUSEMANN und Mitarb.¹⁶⁴), Alginsäureester¹⁷³, Pektinderivate (z. B. Polygalacturonsäure-methylester-methylglucosid) führen zu Heparinersatzpräparaten, die aber weder die Aktivität noch die Verträglichkeit des Heparins erreichen. Manche Verbindungen sind toxisch und verursachen Blutungen. Ob es möglich ist, natürliches Heparin zu ersetzen, bleibt noch fraglich. Der Wirkungsmechanismus auf den Blutgerinnungsablauf ist der gleiche wie bei natürlichem Heparin.

5. *Dicumarol und analog wirkende Verbindungen.*

Der Antikoagulantientherapie mit Heparin sind wegen seiner ausschließlichen parenteralen Anwendung zeitliche Grenzen gesetzt. Dicumarol und analoge Verbindungen können oral verabreicht und deshalb unschwer über längere Zeit von Kranken eingenommen werden. Die später einsetzende Wirkung auf die Gerinnung und die längere Wirkungs-dauer ergänzen die sofortige, aber nur wenige Stunden anhaltende Wirkung des Heparins, so daß dieses für den Beginn der Thrombosetherapie, Dicumarol und ähnlich wirkende Verbindungen für die Dauerbehandlung geeignet sind.

a) Vorkommen.

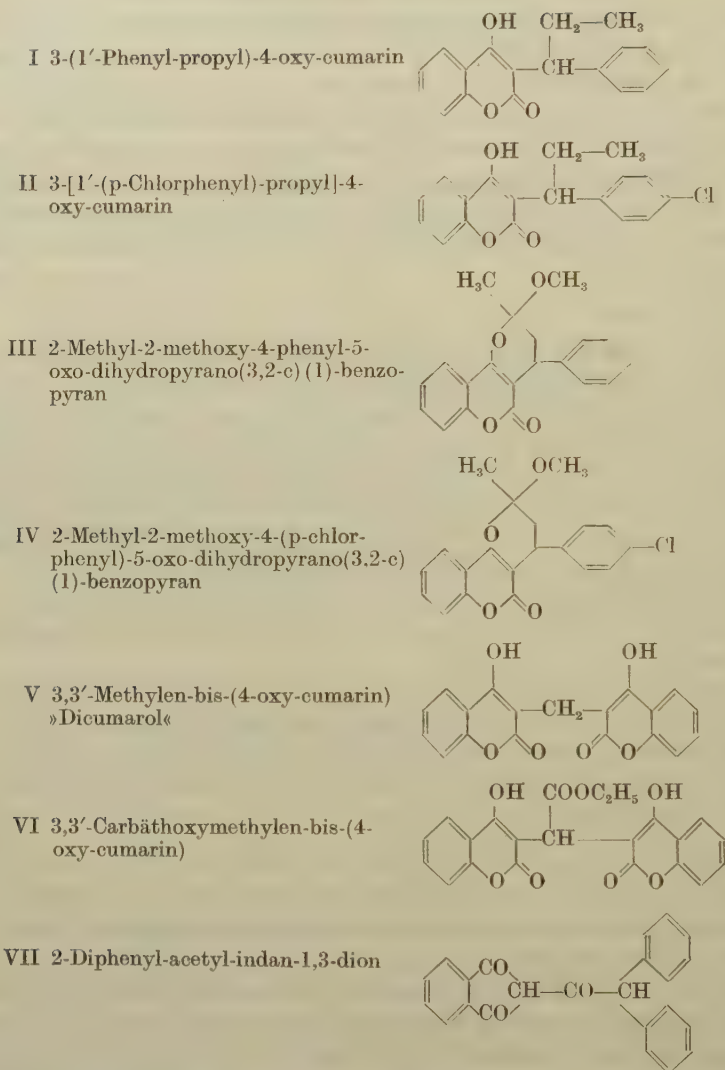
Fressen Rinder faulenden Süßklee (*Melilotus albus*), so erkrankten sie an der sogenannten Süßkleekrankheit („sweet clover disease“), die mit schweren, oft tödlichen Blutungen verläuft, und, wie schon SCHOFFIELD¹⁴² feststellte, auf einer Gerinnungsverzögerung des Blutes beruht. Die Ursache ist das im gärenden Kleefutter vorhandene 3,3'-Methylenbis-4,4'-oxy-cumarin, welches sich durch Fermentation aus dem in vielen Pflanzen vorhandenen Cumarin bildet. CAMPBELL und Mitarb.²⁰ gelang es 1940 diese Substanz zu isolieren; sie war schon 1903 und 1909 von ANSCHÜTZ und FRESSENIUS^{5,6} in Deutschland synthetisch hergestellt worden, ohne daß aber die Autoren ihre gerinnungshemmenden Eigenschaften kannten.

Diese „Dicumarin“ benannte Substanz und analoge Verbindungen wurden 1941 von ALLEN und Mitarbeiter zur Therapie am Menschen eingeführt, sie wird seitdem auch mit analogen Verbindungen zur Behandlung von Thrombose und Embolie fast in der ganzen Welt angewandt.

b) Chemische Zusammensetzung.

Dicumarol ist chemisch ein Dicumarin, wobei zwei Oxycumarinringe mit einer Methylengruppe verbunden sind. Es ist fast ganz unlöslich in Wasser, gut löslich in organischen Lösungsmitteln und Alkalien, kristallisierbar und hat einen Schmelzpunkt von 288°C. In der Folge wurde eine große Zahl von analog dem Dicumarol wirkenden Verbindungen synthetisch hergestellt und namentlich von OVERMAN u. Mitarb.^{123, 122}, JANSEN und JENSEN⁶⁸, LEHMANN¹⁰², GRÜSSNER⁵⁵ untersucht. Wir zeigen hier die chemische Konstitution einiger neuerer Verbindungen aus der Literatur und solcher, die HEGEDÜS, GRÜSSNER und WINTERSTEIN herstellten. Sie haben zum Teil therapeutische Verwendung gefunden. Die Präparate unterscheiden sich voneinander durch Aktivität, Beginn und Dauer der Wirkung und Toxizität.

Zahlreiche Präparate mit analogen Wirkungen hemmen in größeren oder kleineren Mengen die Prothrombin- und Faktor VII-Bildung und vermindern die Gerinnbarkeit des Blutes beim Lebenden (während

Dicumarol und Analoge.*Legende zu Formeltafel:*

- I Im Gegensatz zu Dicumarol nur ein Oxycumarinrest, der in 3-Stellung eine Phenyl-propylgruppe trägt.
- II Erhalten durch Einführung eines Chlor-Atoms in den Phenylkern.
- III Erhalten durch Anfügung eines substituierten Pyranringes an 4-Oxycumarin.
- IV Erhalten durch Einführung von Chlor in III (vgl. I und II).
- V Dicumarol: Aufgebaut aus 2 Oxycumarinresten, die durch eine Methylengruppe verknüpft sind.
- VI Unterscheidet sich vom Dicumarol durch Substitution eines H-Atoms der Methylengruppe durch einen Carbäthoxyrest.
- VII Der 4-Oxycumarinrest ist hier durch den Indandionrest ersetzt.

Faktor V (OWREN) unbeeinflusst bleibt). Dies konnte QUICK 1937 mit seiner für die Fortschritte in der Gerinnungsphysiologie so bedeutsamen Methode der Prothrombinbestimmung feststellen und bestätigen. Wir haben aus einer Reihe von Verbindungen, die von GRÜSSNER, HEGEDÜS und WINTERSTEIN hergestellt waren, die Präparate I, II, IV mit den aus der Literatur bekannten III, V, VI, VII an verschiedenen Tierarten verglichen (JÜRGENS⁸⁴).

c) Wirkung auf die Prothrombinzeit.

Die Wirkung auf die Prothrombinzeit nach *einmaliger* Verabreichung war bei den einzelnen Verbindungen sehr verschieden groß (vgl. die chlorierten Produkte II und IV mit III und V).

Tabelle 8. *Prothrombinzeit nach QUICK in Sekunden nach einmaliger oraler Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols am Hund.*

Dosis (mg/kg)	Durchschnittliche Prothrombinzeiten während 4 Tagen*						
	0,01	0,05	0,1	0,5	1	2,5	5
I	12	12	11	52	102	109	> 180
II	14	19	24	> 180	> 180	> 180	> 180
III	10	10	10	11	14	14	18
IV	10	10	12	26	> 180	> 180	> 180
V	10	11	12	12	14	15	25
Dicumarol							
I	1 Suppositorium zu 10 mg pro Hund (ca. 0,3 mg/kg) 38 sec						

* Gemessen 24, 48, 72, 96 Std nach Verabreichung und gemittelt.

Auch artspezifische Wirkungsdifferenzen waren deutlich. Der Hund reagierte viel empfindlicher als Ratte oder Kaninchen.

Tabelle 9. *Prothrombinzeit nach QUICK in Sekunden nach einmaliger oraler Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols an Kaninchen und Ratte.*

Dosis (mg/kg)		Durchschnittliche Prothrombinzeiten während 4 Tagen*						
		0,1	0,5	0,75	1	2,5	5	10
I	Kaninchen	14	16	16	22	35	27	51
II	Kaninchen	29	59	56	62	—	—	—
III	Kaninchen	12	12	18	22	33	31	43
IV	Kaninchen	20	22	20	19	—	30	—
V	Kaninchen	13	15	17	20	28	25	35
Dicumarol								
VII	Kaninchen	—	—	—	52	> 180	> 180	> 180
I	Kaninchen rectal	—	—	—	—	—	—	59
I	Ratte	15	18	25	33	80	—	—

* Gemessen 24, 48, 72, 96 Std nach Verabreichung und gemittelt.

Ferner war die Wirkungsdauer der Präparate bei den Tierarten unterschiedlich, beim Hund lang, bei Kaninchen und Ratte kürzer.

Tabelle 10. *Dauer der Wirkung nach einmaliger Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols an Hund, Kaninchen und Ratte.*

Tierart	Präparat	Dosis mg/kg	Applikation	Wirkungsdauer Tage
Hund	(I)	1,0	per os	> 10
„	(I)	1,0	i.v.	> 10
„	II	0,05	per os	8
„	(V) Dicumarol	2,5	per os	> 10
Kaninchen	(I)	2,5	per os	5
„	(I)	1,0	i.v.	5
„	II	0,1	per os	5
„	(V) Dicumarol	2,5	per os	4
„	VI	120,0	per os	3
„	VII	1,0	per os	8
Ratte	(I)	0,75	per os	4

Die Wirkung nach *wiederholter Verabreichung* von Präparat I am Kaninchen (zweimal wöchentlich) ergibt, daß die Prothrombinzeit

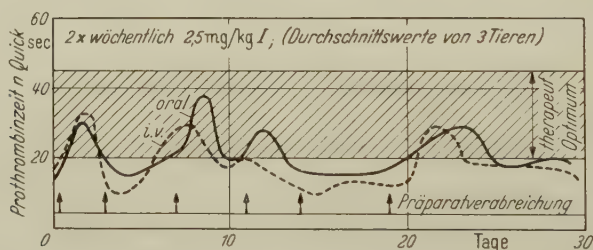


Abb. 12. Wiederholte orale und intravenöse Verabreichung von Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin] am Kaninchen.

mehrere Wochen lang im therapeutisch optimalen Bereich von etwa 20—45 sec bleibt.

Auch zeigte sich kein Unterschied in der Wirkung zwischen intravenöser und oraler Verabreichung. Dies hängt wohl damit zusammen, daß die Präparate für die Reaktion auf die Prothrombinbildungsstätten in den Organen eine Latenzzeit benötigen, die die kleine Zeitdifferenz zwischen der Wirkung nach intravenöser und oraler Applikation überdeckt.

Wirkungsmechanismus. Die gerinnungshemmende Wirkung von Dicumarol und Analogen beruht nach heutiger Anschauung auf der Verdrängung des Vitamin K₁ aus einem Holoferment, welches maßgeblich an der Faktor VII- und Prothrombinbildung beteiligt ist.

Die verschieden protrahierte Wirkung der Cumarine könnte darauf beruhen, daß einige eine größere Affinität zum Apoferment besitzen als andere.

d) Toxizität.

Toxizität und einmalige Verabreichung. Die Toxizität nach einmaliger Verabreichung ist sowohl für die einzelnen Präparate wie für die Tierarten sehr verschieden hoch. Für Dicumarol fanden wir (JÜRGENS⁸¹):

Tabelle 11. *Toxizität von Dicumarol nach einmaliger oraler Verabreichung.*

an Kaninchen:	Dosis letalis absoluta	500 mg/kg
	Dosis letalis 50%	75 mg/kg
	Dosis activa minima	2,5 mg/kg
an Meerschweinchen:	Dosis letalis absoluta	500 mg/kg
	Dosis letalis 50%	250 mg/kg
	Dosis activa minima	125 mg/kg
an Ratten:	Dosis letalis absoluta	500 mg/kg
	Dosis letalis 50%	300 mg/kg
	Dosis activa minima	50 mg/kg
an Mäusen:	Dosis letalis absoluta	600 mg/kg
	Dosis letalis 50%	200 mg/kg
	Dosis activa minima	10 mg/kg

Neuere Untersuchungen mit verschiedenen Präparaten ergaben folgende Befunde:

Tabelle 12. *Toxizität nach einmaliger oraler und intravenöser Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols an Kaninchen, Ratte und Maus.*

Präparat	oral						intravenös			
	Letale Dosis 50 %						Letale Dosis 50 %			
	Tier- zahl	Maus mg/kg	Tier- zahl	Ratte mg/kg	Tier- zahl	Kanin. mg/kg	Tier- zahl	Maus mg/kg	Tier- zahl	Kanin. mg/kg
I	36	190	30	200	6	1-2000	18	32	3	62
II	42	80	—	—	—	—	—	—	—	—
III	42	1600	—	—	3	1000	—	—	—	—
IV	66	600	—	—	—	—	—	—	—	—
V	48	350	6	250	50	75	24	42	3	22
Dicu- marol										
VI	24	750	—	—	3	1000	—	—	—	—
VII	24	300	—	—	—	1000	—	—	—	—

Bei oraler Verabreichung ist die Toxizität beim Kaninchen am geringsten, wohl wegen des voluminösen Verdauungstraktes, bei Ratte und Maus größer, bei intravenöser Injektion viel weniger different.

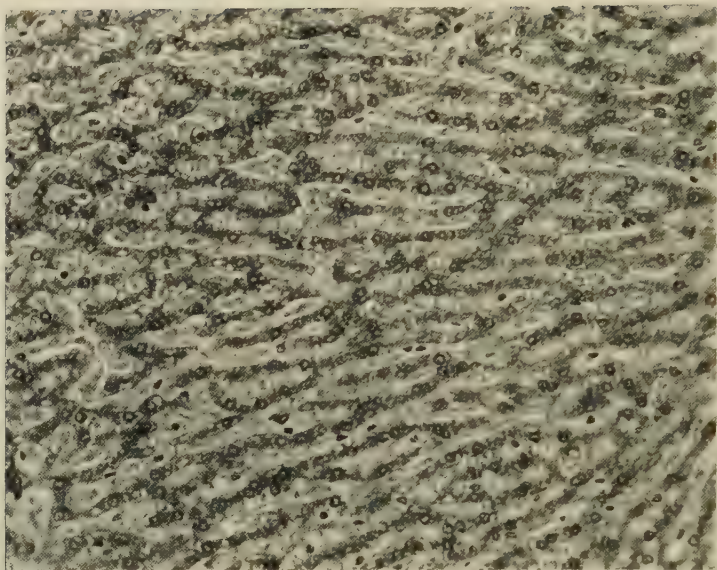


Abb. 13 a. *Leber* (Kaninchen). Hämalaun-Eosin. 250fache Vergrößerung. Akute Stauung mit Versmälnerung der Leberzell-Balken.

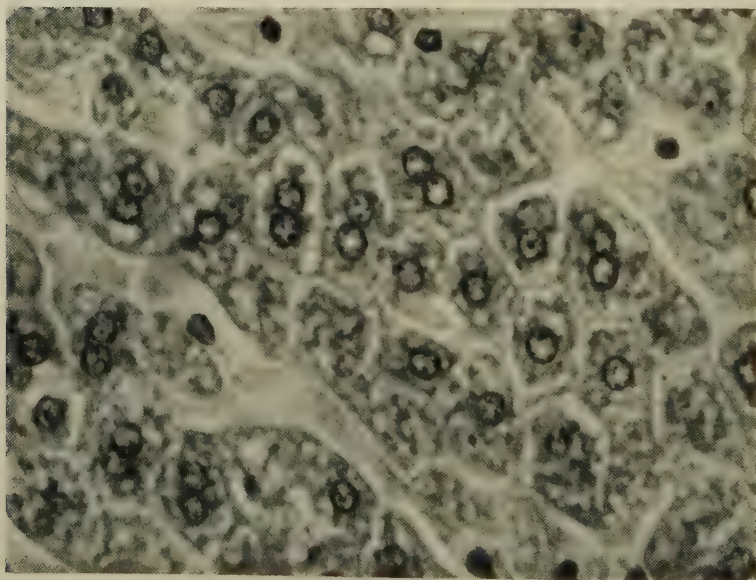


Abb. 13 b. *Leber* (Kaninchen). Hämalaun-Eosin. 650fache Vergrößerung. Häufige Doppelkernigkeit der Leber-Epithelien.

Toxizität nach mehrmaliger Verabreichung. Bei einer Beobachtungszeit von etwa 30 Tagen bei täglicher Verabreichung mit der Schlundsonde erhielten wir mit den verschiedenen Präparaten folgende Werte:

Tabelle 13. *Toxizität nach wiederholter oraler Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols an Kaninchen, Ratte und Maus.*

Tierart und Beobachtungszeit		Präparat	Letale Dosis 50% mg/kg/Tag
Maus (12 Tiere pro dosi)	30 Tage	I	< 5,0
		IV	< 50,0
		VII	< 5,0
		V (Dicumarol)	5,0
Ratte (12 Tiere pro dosi)	11 Tage	VI	50,0
		V (Dicumarol)	25,0
		IV	1,0
		III	1,0
		I	0,2
		II	0,1
		VII	0,1
Kaninchen (3 Tiere pro dosi) (7 Tiere pro dosi) (3 Tiere pro dosi)	30 Tage	VI	400,0
		III	10,0
		V (Dicumarol)	5,0
		I	2,5
		II	0,1
Hund (2 Tiere pro dosi)	30 Tage	I	0,25

Die erhaltenen Toxizitätswerte entsprechen im allgemeinen dem Wirkungsgrad der Präparate auf die Prothrombinzeit. Daß die Toxizität der Dicumarolpräparate nahe mit ihrer Wirkung — wenigstens gilt dies für therapeutische Dosen — auf das Prothrombin in Beziehung steht, geht daraus hervor, daß die Überlebenszeit von Ratten durch gleichzeitige Verabreichung von Vitamin K₁ erheblich verlängert wird.

Erhalten z. B. Ratten täglich 5 mg Präp. I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin] oral und gleichzeitig Vitamin K₁ (50 mg/kg) als Antagonisten, so überlebten alle die Dauer des Versuchs bei fast normaler Prothrombinzeit, während mit Präp. I allein 50% innerhalb von 5 Tagen mit verlängerter Prothrombinzeit eingingen (STUDER, ALFRED).

e) Andere toxische Wirkungen.

Ist die Toxizität des Dicumarols und seiner Analogen nur durch Blutungen infolge der Verminderung des Prothrombins verursacht, oder haben diese Verbindungen noch andere toxische Wirkungen? Bei großer Überdosierung (1000 mg/kg) der geprüften Präparate (am Kaninchen) tritt der Tod unter paretischen Erscheinungen durch Atemlähmung ein, wobei das Herz weiterschlägt, ehe die Prothrombinzeit wesentlich

Tabelle 14. *Antagonistische Wirkung von synthetischem Vitamin K₁ an mit Präp. I behandelten Ratten.*

Die Tiere erhielten täglich oral 5 mg/kg (I).

Tägliche Dosis von synthetischem Vit. K ₁	Tierzahl	Letalität 50 % der Tiere nach Tagen	Gesamtdosis von I	Durchschnittliche Prothrombinzeit v. unverd. Plasma
—	16	5	25 mg/kg	180''
50 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	21''
25 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	22''
10 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	36''
5 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	26''
2,5 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	133''
1 mg/kg oral	12	19	95 mg/kg	142''

herabgesetzt ist und ohne daß Blutungen bestehen. Hier erleiden die Tiere einen „Narkosetod“ und keinen „Verblutungstod“.

Tabelle 15. *Toxizität an Kaninchen nach einmaliger oraler Verabreichung großer Dosen von verschiedenen Analogen des Dicumarols.*

Chemische Bezeichnung	Dosis	Prothrombinzeiten nach QUICK von unverdünntem Plasma	Tot nach Std	Blutungsindex Lunge*) ¹	Mehrkernigkeit der Leberzellen*) ²
3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin	1 g/kg	43''	50	+	44
3-[1'-(p-Chlorphenyl)-propyl]-4-oxy-cumarin	1 g/kg	26''	20	+	42
3,3'-Methylen-bis-(4-oxy-cumarin) „Dicumarol“	1 g/kg	28''	27	++	44
3-[1'-(4'-Chlorphenyl)-acetyl]-4-oxy-cumarin	1 g/kg	36''	24	0	38
2-Diphenyl-acetyl-indan-1,3-dion	1 g/kg	34''	27	+	33
Kontrolltiere	—	15''	—	—	13

*) 1 = + = Eine bis mehrere feine Blutungen.

++ = Zahlreiche und konfluierende Blutungen.

*) 2 = Durchschnittliche Zahl in 10 Gesichtsfeldern bei 250facher Vergrößerung.

Signifikanz nach LINDER $p = 0,001$.

Blutdruck (105—100/75 mm Hg) und Temperatur (etwa 37,5°C) sind nicht oder unwesentlich herabgesetzt.

f) Wirkung auf die Kapillarpermeabilität.

Während bei Ungerinnbarkeit durch Heparin oder bei Hämophilie keine spontanen Kapillarblutungen auftreten, werden solche nach Verabreichung von Dicumarol und Analogen bei therapeutischer Dosierung

gelegentlich, bei hoher Dosierung häufig beobachtet. Dies deutet auf unmittelbare Schädigung der Gefäße hin. Erhalten Kaninchen sehr hohe Dosen Dicumarol (500 mg/kg), so kann es schon zu Kapillarblutungen kommen, ohne daß die Prothrombinzeit verlängert ist (JÜRGENS⁸¹).

KUSCHINSKY und LUDEWIG wiesen an mit Dicumarol behandelten Mäusen durch Messung der Gewichtszunahme von durchströmten Extremitäten eine Zunahme der Gefäßpermeabilität nach, die früher eintrat als die Verlängerung der Prothrombinzeit¹⁰¹. Eine Reihe anderer Autoren konnten Erhöhung der Kapillarpermeabilität beim Menschen beobachten (NEUMAYR und SCHMID¹¹⁹, DIEM³⁷, KOLLER⁹⁷, MATIS und HAGER¹¹⁴).

Die sogenannte Blutungsgröße ermittelten wir mit STUDER, ALFRED, durch einen Index an Kaninchen, der 50 Std nach einmaliger Verabreichung oben genannter Präparate aus der Summe der einzelnen Organblutungen gewonnen wurde.

Tabelle 16. *Blutungsindex, erhalten aus der Summe der einzelnen Organ-Blutungen, 50 Std nach einmaliger Verabreichung verschiedener Analogen des Dicumarols.*

Präparat	Dosis mg/kg	Tierzahl	Blutungsindex*	Prothrombinzeit sec
Präp. I				
oral	10	12	1,3	53
intravenös . .	10	12	1,6	54
Dicumarol (V) .	10	4	3,5	34
oral				
III oral	10	10	4,1	65

* 0 = keine Blutungen.

1 = vereinzelte, kleine Blutungen.

2 = zahlreiche, kleine Blutungen und/oder vereinzelte größere Blutungen.

3 = ausgedehnte, flächenhafte Blutungen.

Der Blutungsindex ist darnach bei im wesentlichen übereinstimmender Prothrombinzeit bei den einzelnen Präparaten sehr verschieden hoch; am niedrigsten liegt er bei Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin].

g) Organbefunde.

Nach Überdosierung fanden sich bei allen von uns geprüften Präparaten Blutungen, vorwiegend in Lunge, Thymus, Skelettmuskulatur und Darmtractus. Schwerere Blut-, Leber- und Nierenschäden lassen sich in der Regel nicht nachweisen. Bei grober Überdosierung ließ sich Mehrkernigkeit der Leberzellen sowie akute Stauung mit verschmälerten Leberzellbalken beobachten (STUDER, ALFRED) Abb. 13a und 13b.

h) Bestimmung der Wirkung von Dicumarol.

Die laufende Prüfung der Prothrombinzeit gibt eine zuverlässige und unbedingt notwendige Kontrolle über die Wirkung des Dicumarols und seiner Analogen.

Es ist nicht möglich, auf die verschiedenen Prothrombinbestimmungsmethoden einzugehen, besonders weil der wahre Prothrombingehalt wohl sicher nicht mit den gebräuchlichsten Methoden erfaßt wird. Hier sei auf die Bücher von RIEBEN¹³³, HALSE⁵⁸, QUICK¹²⁹, OWREN¹²⁴ und besonders von MACFARLANE und BIGGS¹³ verwiesen.

Für die *Bestimmung am Krankenbett* genügt die Einstufenmethode von QUICK. Die Zweistufenmethoden sind nach den neuesten Befunden

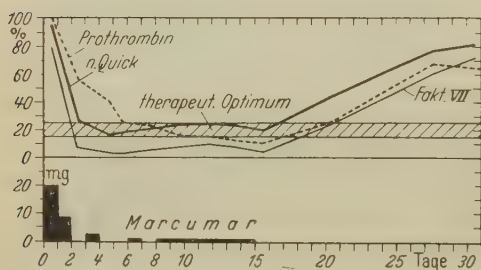


Abb. 14. Nach Verabreichung von Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin] (am 1. Tage 20 mg, am 2. Tag 10 mg, als Erhaltungsdosis 1–3 mg vom 4.–15. Tag) finden KOLLER und JAKOB eine 15 Tage lang anhaltende Herabsetzung der Prothrombinzeit nach QUICK, des Faktor VII und des Prothrombingehaltes im Plasma, die im therapeutischen Optimum für die Behandlung der Thrombose liegt (Nach F. KOLLER u. H. JAKOB, Schweiz. Med. Wschr. 1953).

dosen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht, um die für die Therapie notwendige Senkung des Prothrombinkomplexes nach QUICK zu erhalten:

Tabelle 17. Wirkung der notwendigen Initialdosen verschiedener Antikoagulantien mit Dicumarolwirkung beim Menschen nach KOLLER und JAKOB*.

	1. Tag	2. Tag
<i>Verbindung I</i>		
3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin	21 mg	9 mg
<i>Verbindung III</i>		
2-Methyl-2-methoxy-4-phenyl-5-oxodihydropyrano (3,2-c) (1)-benzopyran	100 mg	50 mg
<i>Verbindung V</i>		
3,3'-Methylen-bis-(4-oxy-cumarin) „Dicumarol“ . .	250 mg	100 mg
<i>Verbindung VI</i>		
3,3'-Carbäthoxymethylen-bis-(4-oxy-cumarin) . . .	1200 mg	900 mg

* Schweiz. Med. Wschr. 83, 476 (1953).

Aus der Tabelle ist die verschieden große Aktivität der einzelnen Verbindungen zu entnehmen, mit deren Zunahme auch die protrahierte Wirkung wächst.

6. *Salicylsäurewirkung.*

Kurz erwähnt sei die Wirkung der *Salicylsäure* bei hoher Dosierung auf die Prothrombinbildung, da sie nach LINK eine Hypoprothrombinämie hervorruft, die unter Umständen mit Schleimhautblutungen einhergeht. Möglicherweise bestehen chemische Beziehungen zwischen Salicylsäure und Dicumarol-analogen Verbindungen im Organismus, weshalb vorgeschlagen wurde, bei länger dauernder Therapie mit Salicylsäurederivaten das Vitamin K als Antagonisten prophylaktisch zu verordnen (HALSE⁵⁸, OWREN¹²⁴). Diese Wirkung der Salicylsäure hat praktische Bedeutung, weil die p-Amino-salicylsäure (PAS) in hohen Dosen (15—40 g und mehr) intravenös bei Tuberkulose, besonders bei Meningitis angewandt wird, wobei dann die Antikoagulantientherapie mit Analogen des Dicumarols kontraindiziert ist.

7. *Das Vitamin K.*

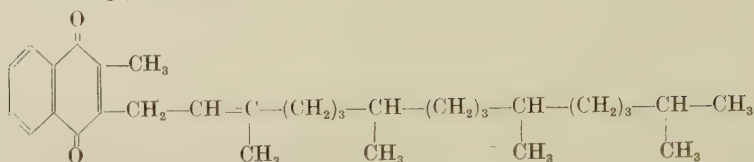
a) *Chemische Beschaffenheit.*

Der wichtigste Faktor, das Vitamin K₁, wurde 1935 von DAM und SCHÖNHEYDER³⁵ in Kopenhagen entdeckt, von KARRER³² 1939 aus Alfalfa rein dargestellt. DOISY^{15,108} bewies die Konstitution der Verbindung. Vitamin K₁ ist ein 2-Methyl-1,4-naphthochinon mit einer Phytylkette in 3-Stellung. Die Synthese wurde gleichzeitig von ALMQUIST^{4a}, DOISY^{15a} und FIESER^{41a} ausgeführt.

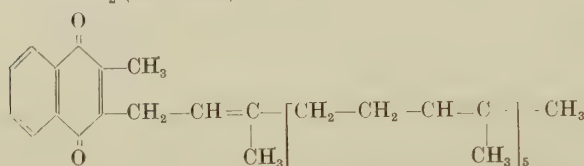
Die Konstitution des Vitamin K₂, isoliert aus faulem Fischmehl, wurde ebenfalls von DOISY aufgeklärt. Es handelt sich auch bei dieser Verbindung um ein Derivat von 2-Methyl-1,4-naphthochinon. Der Unterschied zwischen K₁ und K₂ liegt in der in 3-Stellung stehenden Seitenkette, die beim K₂ länger und ungesättigter ist. K₁ ist etwas aktiver als K₂. Die Synthese von Vitamin K₂ glückte kürzlich ISLER und RÜEGG in Basel.

Vitamin K-Wirkung kommt vielen Naphthochinonen zu. Sie können reduziert und dann mit Säuren verestert werden. Von den Verbindungen ohne 3-ständige Seitenkette ist das Phosphorsäurederivat im Gegensatz zu den anderen Verbindungen wasserlöslich.

Die *wasserlösliche Vitamin K-Verbindung* (Na-Salz v. Menadiol-Diphosphat) hat für parenterale Therapie der Hypoprothrombinämien weitgehende Verwendung gefunden, die *fettlöslichen Vitamin K₁-Präparate* sind als Antagonisten für die Dicumaroltherapie unentbehrlich geworden.

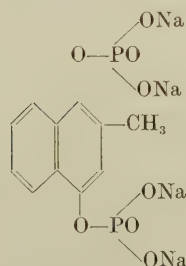
1. Vitamin K₁ (fettlöslich)

2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthochinon

2. Vitamin K₂ (fettlöslich)

2-Methyl-3-hexamethyl-tetracosahexaenyl-1,4-naphthochinon

3. Na-Salz von Menadiol-Diphosphat (wasserlöslich)



2-Methyl-1,4-naphthohydrochinon-diphosphat

b) Wirkung des Vitamin K auf den Gerinnungsmechanismus.

Erhalten Hühnchen mit organischen Lösungsmitteln extrahierte Nahrung, so entwickeln sich wegen Störung der Blutgerinnung durch Prothrombinmangel Blutungen, die Vitamin K in einigen Stunden wieder behebt (DAM und Mitarb.). Direkten Einfluß auf den Gerinnungsvorgang besitzt Vitamin K nicht, es ist *in vitro* unwirksam. Vitamin K-Mangel ist daher am besten durch den Nachweis eines Prothrombindefizits zu erbringen, wobei die Einschränkung gilt, daß Prothrombinmangel auch durch Funktionsstörungen der Prothrombinbildungsgewebe (Leberparenchymschäden) ohne Vitamin K-Mangel entstehen kann.

c) K-Avitaminose.

Hypoprothrombinämie des Neugeborenen. Vitamin K-Mangel liegt vor bei echter K-Avitaminose, die beim Neugeborenen in der ersten Woche wegen noch ungenügender Besiedlung des Darmes mit Bakterien, die Vitamin K bilden, physiologisch ist (ALMQUIST und Mitarb.⁴, KLEIN-

SCHMIDT⁹³). Die Entwicklung der Hypoprothrombinämie des Neugeborenen wird außerdem durch die noch mangelhafte Leberfunktion und die für die Resorption des Vitamin K zu geringe Gallenabsonderung begünstigt.

Die Hämorrhagische Diathese des Neugeborenen. Melaena, Haut- und Schleimhautblutungen, intrakranielle Blutungen und andere werden durch Persistieren des Vitamin K-Mangels Hand in Hand mit Leberfunktions- und Resorptionsstörungen des Darmes ausgelöst; sie verlaufen fast ausnahmslos mit schweren Gerinnungshemmungen infolge Prothrombin- bzw. Faktor VII-Mangels und sind nur dann durch Vitamin K zu beheben, wenn die Funktion der Prothrombinbildungsgewebe nicht zu stark geschädigt ist.

Resorptions-K-Avitaminose. Sie liegt vor bei *Occlusionsikterus* verschiedener Genese und bei Gallenfistel, da für die Resorption des fettlöslichen Vitamin K aus dem Darm Gallenflüssigkeit nötig ist, bei SPRUE und HERTERSchem *Infantilismus* (kindliche Sprue) (FANCONI⁸⁹, KOLLER⁹⁵, HOTZ und ROHR⁶²), die mit schweren Fettresorptionsstörungen der Darmschleimhaut verlaufen.

Leberparenchymschäden.

Hier liegt Bildungsstörung des Prothrombins in der geschädigten Leber und in dem wahrscheinlich auch in Mitleidenschaft gezogenen Retikuloendothel vor, verbunden mit Resorptionsstörung und Veränderung der Darmschleimhaut. Dazu gehören die *akute Leberatrophie*, die *Hepatitis epidemica*, die *Lebercirrhosen*, sowie mit *Leberparenchymschaden einhergehende Vergiftungen* (Benzol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Phosphor, Pilzgifte u. a.). Vitamin K wirkt nur schwach, und nur entsprechend der noch erhaltenen Prothrombinbildungsfähigkeit der geschädigten Organe.

d) Angriffsorte des Vitamin K.

Vitamin K beeinflusst die Gerinnungsfaktoren nicht direkt, sondern wirkt indirekt über die Bildungsstätten des Prothrombins und seiner Acceleratoren in der Zelle.

Bisher wurde allgemein angenommen, daß in der Leber der alleinige Angriffsort des Vitamin K für die Prothrombinbildung sei, sprechen doch die angeführten Beobachtungen über Prothrombinmangel bei Leberparenchymschäden mit gleichzeitiger Störung anderer Leberfunktionen sehr für diese Hypothese. Auch konnten WARREN und RHOADS¹⁶¹ nach Hepatektomie an Hunden Prothrombinverminderung im Blut finden. DAM und Mitarb.³⁴ sahen dagegen an der Gans bei aus der Zirkulation ausgeschalteter Leber *Gerinnungsverkürzung*, die sie allerdings mit Wegfall gerinnungshemmender Einflüsse erklären.

Chemische Leberschädigung. Nach unseren Untersuchungen mit ALFRED STUDER⁹⁰ regt Vitamin K₁ die Prothrombinbildung bei mit Tetrachlorkohlenstoff und Trypanblau lebergeschädigten und mit Dicumarol vorbehandelten Kaninchen wieder an, so daß wir auch an die Möglichkeit *extrahepatischer Prothrombinbildung* dachten.

Leberexstirpation. Zur besseren Klärung dieses Problems exstirpierten wir (JÜRGENS⁸³) mit Dicumarol vorbehandelten Katzen die Leber, injizierten hohe Dosen Vitamin K₁ und stellten fest, daß Prothrombin und

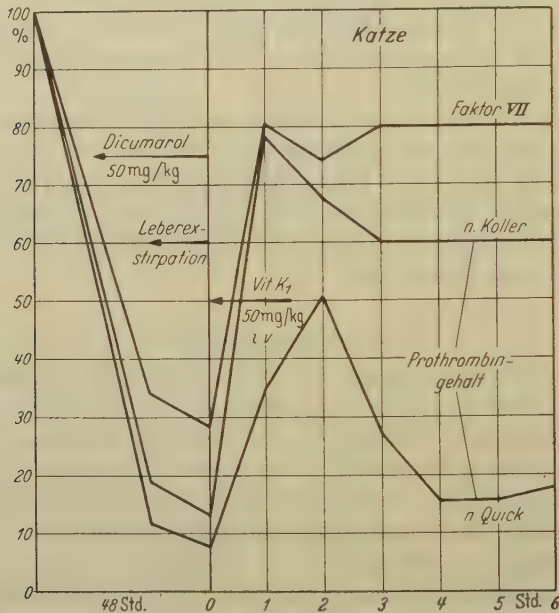


Abb. 15. Wirkung von Vitamin K₁ auf das Prothrombin (QUICK, KOLLER) und den Faktor VII nach Verabreichung von Dicumarol 50 mg/kg und anschließender Leberexstirpation an der Katze in Wirkungsprozenten.

Faktor VII auch ohne Leber in fast normaler Menge wiedergebildet wurden, obwohl sie vorher völlig fehlten. Vitamin K₁ greift offenbar nicht nur in der Leber, sondern auch extrahepatisch, wohl im Retikuloendothel ein.

e) Antagonistische Wirkung von Vitamin K₁.

Die wasserlöslichen parenteral injizierbaren Vitamin K-Präparate (Menadion u. a.) sind bei den meisten Hypoprothrombinämien gut und rasch wirksam (KOLLER⁹⁶), fast unwirksam aber bei Prothrombinmangel nach Dicumarol und analogen Verbindungen (KOLLER⁹⁵, OVERMAN¹²³, BRINKHOUS u. Mitarb.^{16, 17, 18}). Hier sind dagegen die fettlöslichen Vitamin K₁-Verbindungen (Phytylmenadione) wirksam. Dies ließ sich deutlich an

Kaninchen und Hunden zeigen, die nach Vorbehandlung mit Präparat I Vitamin K_1 oral erhalten hatten. Die vorher stark verlängerte Prothrombinzeit wird nach wenigen Stunden durch Vitamin K_1 -Wirkung wieder normal.

Antagonistische Wirkung bei verschiedenen Verabreichungsformen. Am Kaninchen verglichen wir nach oraler Verabreichung eines chlorierten Derivates des Phenyl-propyl-oxy-cumarins die antagonistische Wirkung von Vitamin K_1 nach oraler, rektaler und intravenöser Verabreichung, am Hund auch nach rectaler Verabreichung, mit der von Phenyl-propyl-oxy-cumarin. Wie aus den Kurven ersichtlich ist, ist eine wesentliche Differenz der Wirkung bei den verschiedenen Applikationsformen nicht vorhanden.

Konstitutionsspezifität in der Vitamin K-Reihe. ISLER und RÜEGG haben 24 Verbindungen der Vitamin K-Reihe synthetisiert, bei denen lediglich die Struktur der 3-ständigen Seitenkette variiert wurde. Wir haben nun in Zusammenarbeit mit den Genannten, gemeinsam mit ALFRED STUDER diese Verbindungen auf ihre antagonistische Wirkung gegen verschiedene Oxycumarine am Kaninchen durch Bestimmung der Prothrombinzeit und an der Ratte durch Ermittlung der Überlebensquote geprüft.

K-Präparate mit einer 3-ständigen Seitenkette von weniger als 8 C-Atomen zeigen keine Wirksamkeit. Methylverzweigungen und Doppelbindungen der Seitenkette sind für die Wirksamkeit förderlich, aber

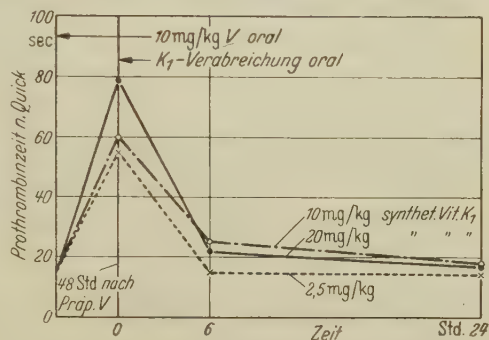


Abb. 16. Antagonistische Wirkung von synthetischem Vitamin K_1 an mit Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin] oral vorbehandelten Kaninchen.

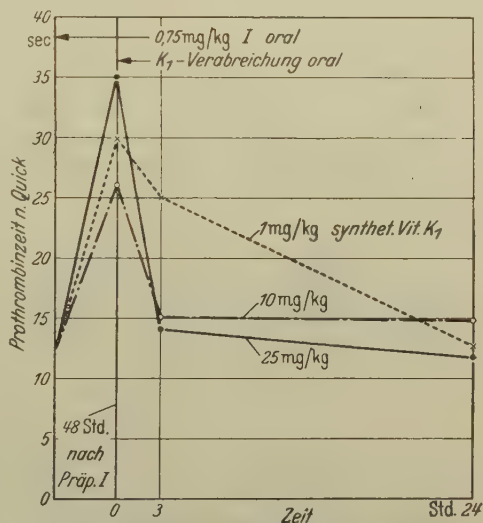
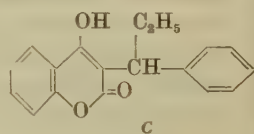
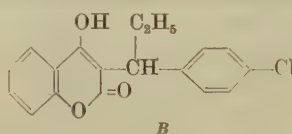
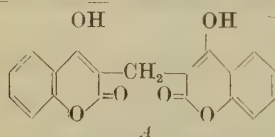


Abb. 17. Antagonistische Wirkung von synthetischem Vitamin K_1 an mit Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin] oral vorbehandelten Hunden.

nicht notwendig. Von ausgeprägter Wirksamkeit sind Verbindungen, die im Aufbau der Seitenkette weitgehend mit dem Vitamin K₁ und Vitamin K₂ übereinstimmen.

Tabelle 18. Vergleich der Wirkung gegen verschiedene Cumarine

K-Präparat Seitenkette in 3-Stellung	C- Atome	Kaninchen			Ratten		
		A	B	C	A	B	C
$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3))_3-\text{CH}_3$ (K ₁)	20	+	+	+	+	+	+
$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$	10	+	+	+	(+)	(-)	(+)
$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3))_5-\text{CH}_3$	30	(-)	(-)	(-)	(+)	-	+
$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{C}_6\text{H}_5$	10	+	+	+	(+)	(-)	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{C}_6\text{H}_5$	10	-	-	-	(-)	(-)	-



Als Beispiel zeigen wir die sogenannte Vitamin K₁-Reihe, die drei niedere Homologe, das Vitamin K₁ und zwei höhere Homologe mit verschiedenen langen Seitenketten umfaßt.

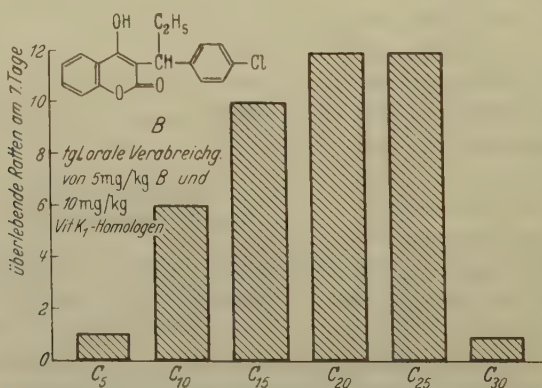


Abb. 18. Wirkung der Verbindungen der Vitamin K₁-Reihe an der Ratte (Überlebensquote nach Belastung mit dem Cumarin B).

In dem von STUDER, ALFRED ausgebildeten Rattentest erweist sich die antagonistische Wirkung in der Vitamin K₁-Reihe bei einer Länge der Seitenkette von 20 C-Atomen als optimal. Verbindungen mit 5 und 30 C-Atomen in der Seitenkette sind unwirksam. Vitamin K₁ mit 20 C-Atomen repräsentiert eine Spitze.

Im Gegensatz zu seinen Homologen und zu Vitamin K-Verbindungen mit phenylhaltiger Seitenkette wirkt es am Kaninchen und an der Ratte bei *allen* geprüften Cumarinverbindungen und hebt sich als Verbindung mit dem größten Wirkungsspektrum hervor^{65, 66}.

Bei Überdosierung von Dicumarol und Analogon ist das Vitamin K₁ schon in kleinen Dosen ein rasch wirkender Antagonist (KOLLER⁶⁹).

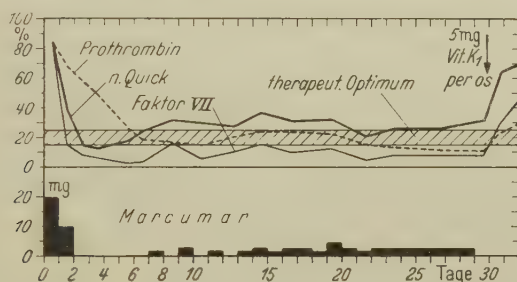


Abb. 19. Antagonistische Wirkung von synthetischem Vitamin K₁ am Menschen nach Vorbehandlung mit Präparat I [3-(1'-Phenyl-propyl)-4-oxy-cumarin]. (Nach F. KOLLER u. H. JAKOB, Schweiz. Med. Wschr. 1953.)

Vitamin K-Dosierung. 8—12 Std nach 10—20 mg Vitamin K₁ (natürliches oder diesem entsprechendes, totalsynthetisches Vitamin K₁, Phytymenadion) kommt es beim Menschen in der Regel zu einer für die Gerinnung ausreichenden Zunahme des Prothrombingehaltes im Blut. Überdosierung verkürzt die Wirkungslatenz nicht, ist aber wegen Erzeugung von Hyperprothrombinämie zu vermeiden.

8. Andere körperfremde gerinnungsaktive Substanzen.

Es bleibt noch übrig, auf einige körperfremde gerinnungswirksame Substanzen hinzuweisen, die mit Ausnahme des Neodymsalzes vorwiegend im Laboratorium verwendet werden. Ich beschränke mich auf die in der Tab. 4 angeführten Angaben, da ein Eingehen auf die Pharmakologie dieser Substanzen den Rahmen dieses Referates übersteigen würde.

G. Schluß.

So bin ich am Ende meiner Ausführungen. Chemische Arbeit und experimentelle medizinische Forschung haben zu neuen Erkenntnissen der normalen und pathologischen Gerinnungsvorgänge und ihrer pharmakologischen Beeinflussung geführt. Darüber hinaus gelang es in den

letzten Jahren, wertvolle Heilmittel für die Blutstillung und für die Behandlung bei Hämorrhagischer Diathese, sowie für die Therapie von Thrombose und Embolie mit Antikoagulantien zu schaffen.

Literatur.

- ¹ AHLQUIST, R. P.: J. Amer. Pharmaceut. Ass. (Sc. Ed.) **39**, 370 (1950). — ² ALBRECHT, K., u. W. DRESSLER: Zbl. Chir. **75**, 1145 (1950). — ³ ALLEN J. G., P. V. MOULDER, C. L. MCKEEN W. EGNER, R. M. ELGHAMMER, u. B. J. GROSSMANN: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **70**, 644 (1949). — ⁴ ALMQUIST, H. J., u. E. L. STOKSTAD: J. Nutr. **12**, 329 (1936). — ^{4a} ALMQUIST, H. J., a. A. A. KLOSE: J. Am. Chem. Soc. **61**, 2557 (1939). — ⁵ ANSCHÜTZ, R.: Ber. Dtsch. chem. Ges. **36**, 463 (1903). — ⁶ ANSCHÜTZ, R., u. R. FRESSENIUS: Liebigs Ann. Chem. **367**, 212 (1909). — ⁷ ASTRUP, T.: Enzymologia **5**, 12 (1938). — ⁸ ASTRUP, T., u. M. VOLKERT: Acta med. Scand. **115**, 393 (1943). — ⁹ BAYERLE, H., u. R. MARX: Arch. exper. Path. Pharmacol. **207**, 8 (1949). — ¹⁰ BELL, F. K., a. J. C. KRANTZ: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) **39**, 94 (1950). — ¹¹ BEST, C. H., a. L. B. JAKUES: Ann. New York Acad. Sc. **49**, 501 (1948). — ¹² BIGGS, R., A. S. DOUGLAS, R. G. MACFARLANE, J. V. DACIE, W. R. PITNEY, a. C. MERSKEY: Brit. Med. J. **1378**, 1952/II. — ¹³ BIGGS, R., a. R. G. MACFARLANE: Human Blood Coagulation and its Disorders, Blackwell, Oxford, 1953. — ¹⁴ BIGGS, R., u. R. G. MACFARLANE: 4. Kongreß der Europäischen Hämatologischen Gesellschaft, Amsterdam 1953. — ¹⁵ BINKLEY, S. B., R. W. MCKEE, S. A. THAYER, a. E. A. DOISY: J. Biol. Chem. **133**, 721 (1940). — ^{15a} BINKLEY, S. B., L. C. CHENEY, W. F. HOLCOMB, R. W. MCKEE, S. A. THAYER, D. W. MACCORQUODALE, & E. A. DOISY: J. Amer. Chem. Soc. **61**, 2558 (1939). — ¹⁶ BRINKHOUS, K. M.: Amer. J. Med. Sc. **196**, 50 (1938). — ¹⁷ BRINKHOUS, K. M., H. P. SMITH, a. E. D. WARNER: Amer. J. Med. Sc. **193**, 475 (1937). — ¹⁸ BRINKHOUS, K. M., H. P. SMITH, a. E. D. WARNER: Amer. J. Physiol. **125**, 683 (1939). — ¹⁹ BURSTEIN, M.: C. r. Acad. Sci. Paris **230**, 1799 (1950). — ²⁰ CAMPBELL, H. A., K. P. LINK, W. L. ROBERTS, a. W. K. SMITH: J. Biol. Chem. **136**, 47 (1940). — ²¹ CHARGAFF, E.: J. Biol. Chem. **155**, 387 (1944). — ²² CHARGAFF, E.: J. Biol. Chem. **173**, 253 (1948). — ²³ CHARGAFF, E., F. W. BANCROFT, a. M. STANLEY-BROWN: J. Biol. Chem. **115**, 149, 155 (1936). — ²⁴ CHARLES, A. F., a. D. A. SCOTT: J. Biol. Chem. **102**, 425 (1933). — ²⁵ COPLEY, A. L.: Science (Lancaster, Pa.) **101**, 436 (1945). — ²⁶ COPLEY, A. L., a. D. V. WHITNEY: J. Laborat. Clin. Med. **28**, 762 (1943). — ²⁷ COSGRIFF, S. W., A. F. DIEFENBACH u. W. VOGT: Amer. J. Med. **9**, 752 (1950). — ²⁸ VAN CREVELD, S.: Schweiz. med. Wschr. **82**, 399 (1952). — ²⁹ VAN CREVELD, S.: 4. Kongreß der Europäischen Hämatologischen Gesellschaft, Amsterdam 1953. — ³⁰ VAN CREVELD, S., P. G. HOORWEG, a. M. M. P. PAULSEN: Blood **8**, 125 (1953). — ³¹ VAN CREVELD, S., a. M. M. P. PAULSEN: Lancet **262**, 23 (1952). — ³² DAM, H., A. GEIGER, J. GLAVIND, P. KARRER, W. KARRER, E. ROTHSCHILD u. H. SALOMON: Helvet. chim. Acta **22**, 310 (1939). — ³³ DAM, H., u. J. GLAVIND: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **82**, 221 (1939). — ³⁴ DAM, H., J. LEWIS u. E. TAGE-HANSEN: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **79**, 121 (1938). — ³⁵ DAM, H., a. F. SCHÖNHEYDER: Nature (Lond.) **135**, 652 (1935). — ³⁶ DECHAUME, M., G. CRUT et M. GOUDAERT: Presse méd. **1948**, 317. — ³⁷ DIEM, E.: Cardiologia (Basel) **10**, 25 (1946). — ³⁸ DÖTTL, K., u. O. RIPKE: Med. u. Chem. **3**, 267 (1936). — ³⁹ FANCONI, G.: Der intestinale Infantilismus, Berlin: S. Karger 1928. — ⁴⁰ FEISSLY, R.: Helvet. med. Acta **12**, 215 (1945). — ⁴¹ FIALA, S., D. R. MERANZE, and K. ROTH: Science (Lancaster, Pa.) **115**, 600 (1952). — ^{41a} FIESER, L. F.: J. Amer. Chem. Soc. **61**, 2559, 2561, 3467 (1939). — ⁴² FISCHER, A.: Biochem. Zschr. **240**, 364 (1931). — ⁴³ FISCHER, A.: Biochem. Zschr. **278**, 133 (1935). — ⁴⁴ FISCHER, A.: Protoplasma (Wien) **26**, 344 (1936). — ⁴⁵ FISCHER, A., u. E. HECHT: Biochem. Zschr. **269**, 115 (1934). —

- ⁴⁶ FISCHER, A., u. R. C. PARKER: Arch. exper. Zellforsch. 8, 297 (1929). —
⁴⁷ FISCHER, A., u. A. SCHMITZ: Zschr. physiol. Chem. 210, 129 (1932). —
⁴⁸ FLEISCH, A., u. J. TRIPOD: Arch. exper. Path. Pharmacol. 200, 118 (1942). —
⁴⁹ FOSTER, R. H. K.: J. Laborat. Clin. Med. 27, 820 (1942). — ⁵⁰ FOSTER, R. H. K.: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) 36, 243 (1947). — ⁵¹ FOSTER, R. H. K.: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) 38, 360 (1949). — ⁵² FOSTER, R. H. K., and A. J. BEGANY: Fed. Proc. 6, 330 (1947). — ⁵³ DRUCKREY, H.: Arch. exper. Path. Pharmacol. 188, 196 (1938). — ⁵⁴ GILBERT, N. C., u. L. A. NALEFSKI: J. Labor. u. Clin. Med. 34, 797 (1949). — ⁵⁵ GRÜSSNER, A.: Festschrift E. BARELL, Basel, S. 238, 1946. — ⁵⁶ HAGEDORN, A. B., u. N. W. BARKER: Amer. Heart J. 35, 603 (1948). — ⁵⁷ HALEY, T. J., u. F. STOLARSKY: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) 39, 76 (1950). — ⁵⁸ HALSE, TH.: Heparin und Heparinoide, Dicumarol. Zürich: S. Hirzel 1950. — ⁵⁹ HARDING, D.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 71, 14 (1949). — ⁶⁰ HARTMANN, R. C., C. L. CONLEY u. I. R. KREVANS: J. Clin. Invest. 30, 948 (1951). — ⁶¹ HORWITT, M. K.: Science (Lancaster, Pa.) 101, 376 (1945). — ⁶² HOTZ, H. W., u. K. ROHR: Erg. inn. Med. 54, 174 (1938). —
⁶³ HOWELL, W. H.: Amer. J. Physiol. 71, 553 (1924/25). — ⁶⁴ HOWELL, W. H., u. E. HOLT: Amer. J. Physiol. 47, 328 (1918). — ⁶⁵ ISLER, O., R. RÜEGG u. R. JÜRGENS: Chimia 7, 235 (1953). — ⁶⁶ ISLER, O., R. RÜEGG, A. STUDER u. R. JÜRGENS: Zschr. physiol. Chem. 295, 290 (1953). — ⁶⁷ JALLING, O., E. JORPES, u. G. LINDÉN: Quart. J. Pharmacy 19, 96 (1946). — ⁶⁸ JANSEN, K. F., u. K. A. JENSEN: Zschr. physiol. Chem. 277, 66 (1943). — ⁶⁹ JAQUES, L. B.: J. Biol. Chem. 133, 445 (1940). —
⁷⁰ JAQUES, L. B.: Biochem. J. 37, 189 (1943). — ⁷¹ JAQUES, L. B.: Rev. hémat. 7, 74 (1952). — ⁷² JAQUES, L. B., u. A. F. CHARLES: Quart. J. Pharmacy 14, 1 (1941). — ⁷³ JAQUES, L. B., E. T. WATERS, u. A. F. CHARLES: J. Biol. Chem. 144, 229 (1942). — ⁷⁴ JORES, A., u. A. DETZEL: Klin. Wschr. 1940, 541. — ⁷⁵ JORPES, E.: Naturwissenschaften 23, 196 (1935). — ⁷⁶ JORPES, E.: Biochem. J. 29, 1817 (1935). — ⁷⁷ JORPES, E.: Acta med. Scand. (Stockh.) 88, 427 (1936). — ⁷⁸ JORPES, E.: Heparin in the Treatment of Thrombosis. London: Oxford Univ. Press 1946. —
⁷⁹ JORPES, E., H. HOLMGREEN u. O. WILANDER: Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 42, 279 (1937). — ⁸⁰ JOSSERAND, A., P. CROIZAT, R. BLANC et MILCHET: Lyon méd. 182, 129 (1949). — ⁸¹ JÜRGENS, R.: Zschr. Vitaminforsch., Bern 19, 342 (1948). — ⁸² JÜRGENS, R.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 58. Kongr., 590 (1952). — ⁸³ JÜRGENS, R.: Acta haematol. (Basel) 7, 143 (1952). — ⁸⁴ JÜRGENS, R.: Schweiz. med. Wschr. 83, 471 (1953). — ⁸⁵ JÜRGENS, R., u. H. BRAUNSTEINER: Schweiz. med. Wschr. 80, 1388 (1950). — ⁸⁶ JÜRGENS, R., u. A. STUDER: Helvet. physiol. Acta 5, C42 (1947). — ⁸⁷ JÜRGENS, R., u. A. STUDER: Schweiz. med. Wschr. 78, 386 (1948). — ⁸⁸ JÜRGENS, R., u. A. STUDER: Verh. Schweiz. Verein. Physiol. Pharmacol., Helv. physiol. pharmacol. Acta 6, 130 (1948). — ⁸⁹ JÜRGENS, R., u. A. STUDER: Schweiz. med. Wschr. 78, 978 (1948). — ⁹⁰ JÜRGENS, R., u. A. STUDER: Schweiz. med. Wschr. 82, 1119 (1952). — ⁹¹ KELLER, R.: Praxis (Bern) 1953, 12. — ⁹² KJEMS, H., u. H. WAGNER: Acta pharmac. tox. 4, 155 (1948). — ⁹³ KLEINSCHMIDT, H.: Mschr. Kinderheilk. 62, 14 (1934). — ⁹⁴ KÖHLER, V., H. LOLL u. H. SCHRÖER: Klin. Wschr. 1953, 616. — ⁹⁵ KOLLER, F.: Helvet. med. Acta 6, 686 (1939). — ⁹⁶ KOLLER, F.: Das Vitamin K und seine klinische Bedeutung. Leipzig: G. Thieme 1941. —
⁹⁷ KOLLER, F.: Helvet. med. Acta 11, 821 (1944). — ⁹⁸ KOLLER, F.: Schweiz. med. Wschr. 75, 290 (1945). — ⁹⁹ KOLLER, F., u. H. JAKOB: Schweiz. med. Wschr. 1953, 476. — ¹⁰⁰ KUIZENGA, M. H., J. W. NELSON, u. G. F. CARTLAND: Amer. J. Physiol. 139, 612 (1943). — ¹⁰¹ KUSCHINSKY, G., u. K. LUDEWIG: Arch. exper. Path. Pharmacol. 210, 404 (1950). — ¹⁰² LEHMANN, J.: Lancet 1943 I, 458. — ¹⁰³ LEWIS, M. N., u. F. DE MARIA: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) 38, 441 (1949). — ¹⁰⁴ LIAN, C., F. SIGUIER, M. PIETTE, P. POULAIN et A. SARRAZIN: Bull. Acad. méd. Belg.

- 131, 512 (1947). — ¹⁰⁵ LOOMIS, E. C.: J. Laborat. Clin. Med. **34**, 631 (1949). — ¹⁰⁶ LORAND, L.: Biochem. J. **52**, 200 (1952). — ¹⁰⁷ LORAND, L., and W. R. MIDDLEBROOK: Biochem. J. **52**, 196 (1952). — ¹⁰⁸ MAC'CORQUODALE, D. W., S. B. BINKLEY, S. A. THAYER, and E. A. DOISY: J. Amer. Chem. Soc. **61**, 1928 (1939). — ¹⁰⁹ MACINTOSH, F. C.: Biochem. J. **35**, 770, 776 (1941). — ¹¹⁰ MALTANER, F.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **67**, 301 (1948). — ¹¹¹ MANGIERI, C. N.: J. Laborat. Clin. Med. **32** II, 901 (1947). — ¹¹² MARBET, R., u. A. WINTERSTEIN: Helvet. physiol. Acta **9**, 24 (1951). — ^{112a} MARBET, R., u. A. WINTERSTEIN: Helvet. chim. Acta **34**, 2311 (1951). — ^{112b} MARBET, R., u. A. WINTERSTEIN: Experientia (Basel) **8**, 41 (1952). — ¹¹³ MARBET, R., u. A. WINTERSTEIN: Helvet. med. Acta **19**, 409 (1952). — ¹¹⁴ MATIS, P., u. H. HAGER: Zschr. exper. Med. **118**, 131 (1951). — ¹¹⁵ McLEAN, J.: Johns Hopkins Hosp. Bull. **31**, 453 (1920). — ¹¹⁶ MELLANBY, J.: Proc. Roy. Soc. Med. **113**, 93 (1933). — ¹¹⁷ MEYLINK, B.: Acta brevia Neerl. **14**, 31 (1946). — ¹¹⁸ National Inst. of Health, Bethesda 14, Maryland Federal Security Agency 1946. — ¹¹⁹ NEUMAYR, A., u. J. SCHMID: Schweiz. med. Wschr. **78**, 616 (1948). — ¹²⁰ NOLF, P.: Vierter Kongreß der Europäischen Hämatologischen Gesellschaft. Amsterdam 1953. — ¹²¹ OERI, J.: Acta ophthalm. (Basel) **30**, 181 (1952). — ¹²² OVERMAN, R. S., M. A. STAHPMAN, a. K. P. LINK: J. Biol. Chem. **145**, 155 (1942). — ¹²³ OVERMAN, R. S., M. A. STAHPMAN, W. R. SULLIVAN, CH. F. HUEBNER, H. A. CAMPBELL, a. K. P. LINK: J. Biol. Chem. **142**, 941 (1942). — ¹²⁴ OWREN, P. A.: The Coagulation of Blood. Oslo, Gundersen 1947. — ¹²⁵ British Pharmacopoeia 1948. S. 807. — ¹²⁶ The Pharmacopoeia of the USA, XIV, 1950, S. 271. — ¹²⁷ QUICK, A. J.: Amer. J. Physiol. **114**, 282 (1936). — ¹²⁸ QUICK, A. J.: Amer. J. Med. Sci. **214**, 272 (1947). — ¹²⁹ QUICK, A. J.: The Physiology a. Pathology of Haemostasis. London: Kimpton 1951. — ¹³⁰ QUIVY, D.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **141**, 608, 974 (1947). — ¹³¹ REINERT, M., u. A. WINTERSTEIN: Arch. internat. pharmacodyn. therap. **62**, 47 (1939). — ¹³² REISS, M., F. E. BADRICK, J. D. K. HALKERSTON a. C. PLAICE: Nature (Lond.) **168**, 206 (1951). — ¹³³ RIEBEN, W. K.: Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. Basel: Schwabe 1947. — ¹³⁴ ROCHA E SILVA, M., et S. O. ANDRADE: Science (Lancaster, Pa.) **102**, 670 (1945). — ¹³⁵ ROSKAM, J., et L. PAUWEN: Arch. internat. pharmacodyn. therap. **57**, 450 (1937). — ¹³⁶ LE ROY, G. V., B. HALPERN a. R. E. DOLKART: J. Laborat. Clin. Med. **35**, 446 (1950). — ¹³⁷ SAUERBRUCH, F.: Med. Klin. **1950**, 193. — ¹³⁸ SCHMIDT, A.: Pflügers Arch. **6**, 413 (1872). — ¹³⁹ SCHMIDT, A.: Die Lehre der fermentativen Gerinnungserscheinungen. Dorpat 1876. — ¹⁴⁰ SCHMITZ, A., u. A. FISCHER: Z. physiol. Chem. **216**, 264, 274 (1933). — ¹⁴¹ SCHOCH, A.: Med. Klin. **1950**, 666. — ¹⁴² SCHOFIELD: Canad. Vet. Record **3**, 74 (1922). — ¹⁴³ SCHULTZE, H. E., u. G. SCHWICK: Zschr. physiol. Chem. **289**, 26 (1952). — ¹⁴⁴ SCHÜRER, W.: Helvet. med. Acta **13**, 161 (1946). — ¹⁴⁵ SCHÜTZ, F.: Quart. J. Pharmacy **14**, 45 (1941). — ¹⁴⁶ SCOTT, D. A., a. A. F. CHARLES: J. Biol. Chem. **102**, 437 (1933). — ¹⁴⁷ SEEGER, W. H.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **51**, 172 (1942). — ¹⁴⁸ SEEGER, W. H., R. I. McCLAUGHRY, a. J. L. FAHEY: Blood **5**, 421 (1950). — ¹⁴⁹ SHINOWARA, G. Y.: J. Laborat. Clin. Med. **38**, 11 (1951). — ¹⁵⁰ SIGG, B.: Klin. Wschr. **1952**, 205. — ¹⁵¹ STOCKER, S. BR.: J. Physiol. **110**, 26 P (1949). — ¹⁵² STRAUB, W.: Arch. exper. Path. Pharmacol. **185**, 456 (1937). — ¹⁵³ STUDER, A.: Festschrift E. BARELL 1946. Basel, S. 229. — ¹⁵⁴ STUDER, A., u. A. WINTERSTEIN: Helvet. physiol. Acta **9**, 6 (1951). — ¹⁵⁵ SWOAP, O. F., a. M. H. KUIZENGA: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.) **38**, 563 (1949). — ¹⁵⁶ DETAKATS, G., a. N. C. GILBERT: J. Amer. Med. Assoc. **121**, 1246 (1943). — ¹⁵⁷ TRETHEWIE, E. R., a. P. A. MELVIN: Austral. J. Exper. Biol. **23**, 241 (1945). — ¹⁵⁸ USTERI, C.: Diss. Zürich 1949. — ¹⁵⁹ VERSTRATE, M., et R. VERWILGHEN: Acta clin. Belg. **7**, 65 (1952). — ¹⁶⁰ WARE, A. G., J. L. FAHEY, a. W. H. SEEGER: Amer. J. Physiol. **154**, 140 (1948). — ¹⁶¹ WARREN, R., a. J. E. RHOADS: Amer. J. Med. Sc. **198**, 193 (1939).

— ¹⁶² WEISSBECKER, L.: Klinik der Nebenniereninsuffizienz und ihre Grundlagen. Stuttgart: Enke 1954. — ¹⁶³ WEISSBECKER, L., u. A. HITZELBERGER: Klin. Wschr. 1953, 288. — ¹⁶⁴ WIEDERSHEIM, M., W. HERTLEIN, E. HUSEMANN u. R. LÖTTERLE: Arch. exper. Path. Pharmac. 217, 107 (1953). — ¹⁶⁵ WILANDER, O.: Acta med. Scand. (Stockh.) 94, 258 (1938). — ¹⁶⁶ WILANDER, O.: Scand. Arch. Physiol. 81, Suppl. XV, (1939). — ¹⁶⁷ WINTERSTEIN, A.: Bruxelles-méd. 1950, 66. — ¹⁶⁸ WÖHLISCH, E.: Erg. Physiol. 43, 174 (1940). — ¹⁶⁹ WOLFROM, M. L., R. MONTGOMERY, J. V. KARABINOS, a. P. RATHGEB: J. Amer. Chem. Soc. 72, 5796 (1950). — ¹⁷⁰ WRIGHT, H. P.: J. Path. Bact. 54, 461 (1942). — ¹⁷¹ WRIGHT, H. P.: J. Path. Bact. 56, 151 (1944). — ¹⁷² WRIGHT, I. S.: Circulation (New York) 5, 161 (1952). — ¹⁷³ WYETH, U.S.A., A.P. 2508433. — ¹⁷⁴ WYSS, O.: Schweiz. med. Wschr. 80, 27 (1950). — ¹⁷⁵ ZAKRZEWSKI, Z.: Zschr. Krebsforsch. 36, 513 (1932).

Diskussion zum Hauptthema II.

Angemeldete Diskussionsbemerkungen.

W. NEUMANN (Würzburg): Bemerkungen zu Struktur und Wirkungsbedingungen von Thrombokinase. Thrombokinasepräparate enthalten Phospholipide vom Typ des Lecithins und Cephalins. Eine Zeitlang hat man Cephalin für den eigentlich wirksamen Bestandteil gehalten, aber in neuerer Zeit ist sogar bezweifelt worden, ob Phospholipide hier überhaupt eine Rolle spielen.

Wir können wohl zur Klärung einiger Fragen etwas beitragen aus Untersuchungen über Bienengift und Schlangengifte heraus. Diese Gifte inaktivieren Thrombokinase. Sie enthalten unter anderem eine Phospholipase A, die, kurz gesagt, aus Stoffen wie Lecithin die ungesättigte Fettsäure herauspaltet. Über unsere Untersuchungen an diesem Ferment hat E. HABERMANN vor kurzem in Homburg auf der Tagung der deutschen Gesellschaft für Physiologische Chemie berichtet. Das Ferment ist mit größter Wahrscheinlichkeit für die Thrombokinaseinaktivierung verantwortlich. Daraus geht zunächst hervor, daß Phospholipide für die Thrombokinasefunktion ausschlaggebend sind.

Die aktivsten bisher bekannten Thrombokinasepräparate haben eine hohe Teilchengröße von etwa der gleichen Dimension wie gewisse Fermente des intermediären Stoffwechsels, die strukturell an phospholipoidhaltige Zellelemente gebunden sind. Auch in die Funktion dieser Fermente greifen unsere Gifte ein. Die von FLECKENSTEIN zuerst beobachtete Hemmung der Bernsteinsäuredehydrierung durch tierische Gifte beruht nach unseren Untersuchungen ebenfalls auf der Phospholipase A. Mit uns stimmen angelsächsische Autoren überein, die noch weitere Fermente des intermediären Stoffwechsels als phospholipaseempfindlich nachgewiesen haben. Man nimmt an, daß die Phospholipide hier eine Art Bindeglied im Zusammenwirken verschiedener Komplexe darstellen und durch Phospholipase A diese Bindungsfunktion verlieren.

Auch bei der Thrombokinase sind die Phospholipide sehr wahrscheinlich wesentliche Strukturbestandteile. Wir können das allerdings nur mit Vorbehalt sagen; denn Thrombokinase kann auch durch Stoffe — wie z. B. Lysocithin — gehemmt werden, die durch Phospholipase A entstehen. Man wird also noch prüfen müssen, ob der Angriff an dem Phospholipoid oder das Erscheinen der Lysoverbindungen über die Aufhebung der Thrombokinasefunktion entscheidet.

Diese Beobachtungen und Erwägungen könnten als lediglich theoretisch interessant und als ohne Belang für die normale und pathologische Blutgerinnung erscheinen. Nach amerikanischen Arbeiten enthält das Blut ein Ferment, das ebenso wie Phospholipase A und C durch Calcium aktivierbar ist und die Phospholipoidkomponente des CHARGAFFschen Thromboplastins angreift. Es liegt sehr nahe,

hier an eine Phospholipase zu denken; denn italienische Autoren haben schon vor einigen Jahrzehnten solche Fermente in Organen nachgewiesen. Man müßte also prüfen, ob sich diese Antithrombokinasen oder Thromboplastinasen als Phospholipase identifizieren läßt und wie eventuell ihr Blutspiegel bei normaler und gestörter Blutgerinnung ist. Vielleicht kann bei derartigen Versuchen die von uns an den tierischen Giften entwickelte Spezialmethodik zur Aktivitätsbestimmung von Phospholipase A von Wert sein.

L. ROKA (Frankfurt a. M.): Untersuchungen zur Prothrombinbildung in der Leber. Bebrütet man isolierte Lebermitochondrien mit Faktor VII und Vitamin K dann entsteht Prothrombin (PTB) und gleichzeitig wird Faktor VII verbraucht. Die Ausbeute an PTB wird durch die verfügbare Menge Faktor VII und Vitamin K bestimmt. Als K Präparat ist Synkavit wirksam, wird aber durch das natürliche Vitamin K₁ um das 7fache übertroffen. Die Reaktion wird teilweise gehemmt durch Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Cyanid und Fluorid und durch Entzug von Sauerstoff. Dicumarol dagegen hemmt überraschenderweise nicht, obwohl Mitochondrien von Ratten, die in vivo hohe Dosen Dicumarol erhalten hatten kein PTB erzeugen können. Stärkere Dicumarolderivate, wie Warfarin und Tomorin lassen — wenn auch sehr geringe — Hemmung erkennen.

KOLLER zu ROKA (Frankfurt): Die Untersuchungen von ROKA über die Prothrombinbildung in vitro (im Leberhomogenat) sind außerordentlich interessant. Wir haben seinerzeit gemeinsam mit Prof. KARRER die Frage geprüft, ob das Vitamin K im Prothrombinmolekül als prosthetische Gruppe enthalten sei. Die Frage konnte verneint werden. Mit welcher Methode wurde in diesen in vitro-Versuchen Prothrombin und Faktor VII bestimmt?

ROKA antwortet zu Frage KOLLER: Die berichteten Ergebnisse wurden mit der Methode von KOLLER gewonnen, wobei alle Faktoren, außer der zu prüfenden, im Testsystem im Überschuß vorhanden waren.

HELLMUT HARTERT (Heidelberg): Ein Retraktions-Cofaktor im Serum. Das Hauptaugenmerk der Forschung hat sich, wie wir aus den vorausgegangenen Vorträgen ersehen konnten, in den letzten 10 Jahren vor allem auf die erste Phase der Blutgerinnung gerichtet. In dieser Phase wird die Fibrinbildung durch einen Komplex von Reaktionen vorbereitet und eingeleitet. Die Entstehung des Fibrins selbst wird als zweite Gerinnungsphase bezeichnet. Der Ablauf dieser zweiten Phase scheint automatisch gesichert zu sein, wenn das in der ersten Phase gebildete Thrombin genügend zur Wirkung kommt. Diese Tatsache ist im Reagensglas ganz einfach nachzuweisen, indem man Thrombin zu einer Fibrinogenlösung gibt. Das bekannte Ergebnis ist die Bildung eines Fibringerinnsels.

Wie wir schon früher zeigen konnten, wird die elastische Festigkeit eines in vitro entstehenden Blutgerinnsels auf einen Bruchteil reduziert, wenn man vor der Gerinnung die Blutplättchen aus dem Plasma entfernt. Wenn man also voraussetzt, daß die Festigkeit eines Blutgerinnsels von physiologischer Bedeutung ist, so sind die Blutplättchen in hohem Maße hierfür verantwortlich. Diese festigende Funktion der Blutplättchen ist mit ihrer Eigenschaft verknüpft, das Blutgerinnsel zur Retraktion zu bringen. Wir haben mit Hilfe unserer Methode der Thrombelastographie ausgedehnte Untersuchungen über den Retraktionsmechanismus angestellt. Es konnte dabei in hohem Maße wahrscheinlich gemacht werden, daß neben den thromboplastischen Faktoren in den Blutplättchen ein weiterer Faktor vorhanden ist, der nur unter der Voraussetzung eine Retraktion bewirkt, daß er mit den Blutplättchen eine diskontinuierliche Verteilung im Blutplasma erfährt. Dies wäre also ein Faktor, der neben dem Thrombin für den ordnungsgemäßen Ablauf der zweiten bzw. dritten Phase notwendig ist.

Bei dem Versuch einer weiteren Differenzierung der zweiten und dritten Phase gingen wir nun nochmals von deren Grundsubstanzen aus. Ein Gerinnungssubstrat aus Fibrinogen und Thrombin brachte wie zu erwarten ein nur sehr schlaffes Gerinnsel bei der Untersuchung im Thrombelastographen zustande. Fügten wir nun vor der Gerinnung dem Substrat auch noch gewaschene Blutplättchen hinzu, so änderte das an der mangelhaften Qualität des Gerinnsels gar nichts. Auch die Hinzufügung von Calcium, das nach LORAND auch für den Fibrinaufbau notwendig ist, erbrachte keine Änderung der Verhältnisse; d. h. ein Gerinnungssubstrat bestehend aus einer Fibrinogenlösung, Blutplättchen und Calcium — alles in optimaler Konzentration — gerann zwar ordnungsgemäß in zeitlicher Hinsicht, in qualitativer Hinsicht war es jedoch einem normalen Gerinnsel aus thrombocytenhaltigem Citratplasma weit unterlegen. Dem Gerinnungssubstrat mußte also immer noch ein für den Gerinnelaufbau notwendiger Bestandteil fehlen. Wie Sie auf Abb. 1 sehen, führte die Hinzufügung von $\frac{1}{10}$ Volumen eines normalen Serums zum Gerinnungssubstrat zu einer vollständigen Normalisierung der elastischen Festigkeit. Wurde der Serumzusatz verringert, so wurde auch der Effekt dieses Zusatzes auf die elastische Festigkeit wesentlich geringer. Offenbar ist also im Serum etwas enthalten, was neben Thrombin, Blutplättchen und Calcium auf die Fibrinbildung physiologischerweise mit einwirken muß. Bei dem Versuch, den für diesen Effekt des Serums wirksamen Bestandteil näher zu definieren, fand sich zunächst, daß dieser mit keinem der bekannten Gerinnungsfaktoren identisch ist. Weder SERRZ-Filtration noch Behandlung mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ oder BaSO_4 konnte die Aktivität des restierenden Serums verhindern. Auch das Serum vom Typ 1 der Hämophilie war voll wirksam. Alterung des Serums oder halbstündiges Erhitzen auf 56° konnte die Aktivität nicht vermindern. Diese Beispiele seien nur herausgegriffen, um zu zeigen, daß es sich offenbar um den Effekt eines spezifischen Faktors, eines Accelerators der zweiten Phase, handelt. Nach den noch im Gange befindlichen Untersuchungen findet sich der Faktor in der Alpha-Globulin-Fraktion. Albumin und Gamma-Globulin enthalten jedenfalls keine wesentlichen Anteile des Faktors. Eine weitere Isolierung ist bisher nicht gelungen. Abb. 2 zeigt ein vereinfachtes Gerinnungsschema, auf der die zweite Phase der Gerinnung nach dem augenblicklichen Stand des Wissens hervorgehoben ist, d. h. neben dem Thrombin sind zur Bildung eines normalen Gerinnsels nicht nur Blutplättchen und Calcium notwendig, sondern auch ein Serumfaktor.

F. SCHLEYER (Bonn): Untersuchungen zur Frage eines fibrinolytischen Potentials in Blutgruppen-Immunseren. In den letzten Jahren sind von geburtshilflicher Seite mehrfach Berichte über profuse Blutungen bei einer ausgeprägten Gerinnungsschwäche und Eigenfibrinolyse und zum Teil Hypofibrinogenämie im Blut solcher Schwangeren erschienen, die gegen ein Rhesus-Antigen immunisiert waren, in einem Fall mit gleichzeitiger Eigenfibrinogenolyse und Fremdfibrinolyse. In sämtlichen dieser bisher beschriebenen 7 Fälle war eine macerierte Frucht vorhanden.

Wir haben versucht, zu klären, ob hier etwa ein antikoagulatorischer (fibrinolytischer?) Faktor wirksam ist, der im Zusammenhang mit der Immunisierung dieser Schwangeren gegen Blutgruppen- oder Blutfaktorantigene steht. Ganz ausgeschlossen wäre eine solche Möglichkeit nicht, da die Bildung von Blutgruppen-Immunantikörpern ein sehr komplexer Vorgang ist: es entstehen dabei nicht nur Hämolsine und -agglutinine, sondern auch komplementbindende und wahrscheinlich noch andere Antikörper.

Wir haben 6 Anti-Rh- und 2 Anti-A-Blutgruppen-Immunseren auf ein antikoagulatorisches Prinzip untersucht, und zwar

1. durch Beobachtung ihres Einflusses auf die spontane Lyse von Fremdblut-coagula bei 20 und 37° ;

2. durch Messung der Intensität des Abbaues von isoliertem Fibrin mittels der Biuret-Reaktion;

3. durch Beobachtung der Wirkung der Seren auf die Fremdplasma-Gerinnungszeit (mittels der Capillarmethode nach SCHULTZ);

4. durch Messung der quantitativen Fibrinbildung aus Normalplasma nach GRAM-CULLEN-VAN SLYKE-WÖHLISCH unter dem Zusatz von Immunseren.

Alle Versuchsanordnungen mit Kontrollen (Eigenserum der Plasmaspender, Normalmischserum, NaCl-Lösung). Die Wirkung auf das Eigenfibrin der Serumspender konnte leider nicht geprüft werden, da uns nur die konservierten Immunseren zur Verfügung standen.

Voraussetzung war natürlich die Arbeitshypothese, daß ein solches gerinnungshemmendes Potential, wenn es im Serum enthalten und ein Produkt der Immunreaktion ist, bei der grundsätzlichen immunologischen Gleichheit aller Blutgruppen- und Blutfaktor-Antikörperbildung nicht auf Schwangere beschränkt wäre und auch gegenüber Fremdblut oder isolierten Gerinnungssystemen und -komponenten zum Ausdruck kommen müßte, *es sei denn*, der Angriffspunkt der Schädigung läge bereits an der Bildungsstätte des Fibrinogens, oder die Gerinnungsschädigung hat eine macerierte Frucht zur Voraussetzung.

Das Ergebnis läßt sich in einem Satz zusammenfassen: eine regelmäßige, eindeutige oder spezifische schädigende Einwirkung der Immunseren auf den Gerinnungsvorgang oder Gerinnungskomponenten konnte nicht festgestellt werden, auch nicht bei jenen Seren, die einen hohen Hämagglutinititer hatten. Allerdings ist dabei einschränkend zu sagen, daß die Erzeugung des Anti-Rhesus-Antikörpers durch eine inkompatible Frucht in drei unserer Fälle schon Monate bzw. Jahre zurücklag, daß die Frucht nur einmal maceriert gewesen war, daß das Versuchsserum in 4 Fällen mehr oder weniger lange Zeit konserviert gewesen war, und daß die Immunantikörper in 3 Seren durch „künstliche“ Immunisierung, d. h. durch Injektion von unverträglichem Blutgruppen-Antigen erzeugt worden waren.

Man wird vorerst den vorsichtigen Schluß ziehen können, daß die in der Klinik zu beobachtende vitale gesteigerte Eigenfibrinolyse, Hypofibrinogenämie usw. im Blut von Schwangeren wohl an das Vorhandensein einer macerierten, durch Blutgruppenunverträglichkeit geschädigten Frucht gebunden und keine generelle Eigenschaft von Blutgruppen-Immunseren ist. (Erscheint ausführlich in „Plasma“, Mailand.)

O. BÜCH (Homburg/Saar): Tierserum als Blutersatz beim Menschen. Während des letzten Krieges und in der Nachkriegszeit versuchte man das Blutersatzproblem in verschiedener Weise einer Lösung entgegenzuführen. Einer dieser Wege führte beispielsweise zur zellfreien Blutkonserve aus menschlichem Blut als Ausgangsmaterial. — 1940 teilte E. J. COHN in USA in seiner Arbeit „methods of ethanol-water-fractionation of beef plasma“ mit, daß die Antigene an die Plasmaglobuline gebunden seien, und daß man durch ihre Abtrennung zu antigenfreien Tierblutalbuminlösungen gelange, die sich zur intravenösen Eiweißsubstitution für den Menschen eignen. Ein anderer Weg zur Erzielung eines antigenfreien Trockenserums aus Tierblut wurde 1940 durch LENGGENHAGER versucht. Jedoch genügte dieses Trockenserum den klinischen Erfordernissen nicht hinsichtlich Antigenfreiheit. 1946 berichtete MASSONS über sein Isoplasma, ein Produkt, das aus Kälberblut gewonnen wird und über dessen gute klinische Verträglichkeit als Blutersatzmittel von einer großen Zahl spanischer Kliniker in den letzten Jahren berichtet wurde. — Während der letzten 2½ Jahren wurde in Deutschland Adaequan Resorba, eine artunspezifische Rinderserumkonserve der klinischen Prüfung zugeführt. Nach Angabe des Prospektes erfolgt die Befreiung des Rinderserums von Anaphy-

laktogenen, Agglutininen und Hämolsinen durch einen thermischen Prozeß, nachdem das tierische Eiweiß zuvor in eine thermoresistente Phase gebracht wird. Die bisherigen Berichte über die klinische Brauchbarkeit des Präparates sind zum allergrößten Teil günstig. KOCH und KEMPTER berichteten, daß sie 500 Ampullen Adaequan zu 250 ccm 115 Patienten infundierten, WEITZ berichtete über 450 Adaequaninfusionen, LEZIUS und LINDENSCHMIDT über 108 Patienten, welchen sie Adaequan infundierten, GRÜNING berichtete über 100 Adaequaninfusionen. Diesen über 1000 in Publikationen mitgeteilten Adaequaninfusionen, stehen allerdings die schlechten Erfahrungen von RÖSE gegenüber, der bei 13 Patienten, welchen er Adaequan infundierte, bei wiederholter Infusion, bei 3 Patienten schwere Erscheinungen, in einem Fall mit letalem Ausgang sah. — Wir haben versucht die Frage der Antigenfreiheit von Adaequan im Tierversuch zu beantworten.

Unser Tiermaterial bestand aus 64 männlichen Meerschweinchen, die Sensibilisierung erfolgte in je 2 Gruppen von 32 Tieren in üblicher Weise durch dreimalige kombinierte subcutane und intraperitoneale Injektion im Abstand von 2 Tagen mit je 0,5 ccm Adaequan bzw. Boviserin Behringwerke als Vergleichssubstanz. Die Untersuchungen auf Vorliegen einer Allergisierung wurde bei allen Tieren zwischen 27. und 35. Tag nach der ersten Applikation des Antigens vorgenommen. Die Beurteilung der Schocksymptome erfolgte auf zwei verschiedene Arten. Bei der Hälfte der Tiere wurde das Vorliegen bzw. die Stärke der allergischen Reaktion auf Grund des Verhaltens des wachen Tieres nach intravenöser Verabreichung der Erfolgsinjektion beurteilt. Bei der zweiten Hälfte der Tiere wurde in leichter Urethannarkose durch Einführen einer Trachealkanüle die Atmung mit Hilfe einer MAREYSchen Kapsel kymographisch registriert. Hierbei ließ sich die für den allergischen Schock charakteristische Beeinflussung der Atemfunktion auf Grund der Veränderung von Atemfrequenz, Atemtiefe und Atemtypus kurvenmäßig objektiv erfassen. Beide Methoden, die subjektive Beurteilung des Tieres nach der Erfolgsinjektion einerseits, wie die Methode der kymographischen Registrierung der Atemtätigkeit des Versuchstieres nach der Verabreichung der Erfolgsinjektion, führten insofern zu verschiedenen Resultaten, als die kymographische Registrierung offenbar der ganz wesentlich empfindlichere Test ist.

Inspektion		Registrierung	
A	B	A	B
a	a	a	a
∅	∅	(+)-+	+
b	b	b	b
(+)-+	+++	+	+++

A = Adaequan Resorba; B = Boviserin Behringwerke.

Große Buchstaben = s.c. + i.p. Applikation des Antigens.

Kleine Buchstaben = i.v. Erfolgsinjektion.

Die Ergebnisse unserer Versuche lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bei einer Vorbehandlung mit Adaequan sind nach intravenöser Injektion von Adaequan keine Anzeichen einer Allergisierung zu erkennen. Mit der registrierenden Methode ist etwa bei der Hälfte der Versuchstiere eine schwache, aber deutliche Sensibilisierung zu erkennen.

2. Die Injektion von Boviserin zeigt bei Tieren, die mit Adaequan vorbehandelt wurden regelmäßig eine schwache, aber deutlich erfaßbare Sensibilisierung (deutlich erkennbar bei Beobachtung der Versuchstiere und selbstverständlich auch bei Registrierung der Atmung).

3. Die Intravenöse Injektion von Adaequan bei Meerschweinchen, die mit Boviserin vorbehandelt wurden, ergibt keinerlei äußerlich erkennbare Anzeichen einer allergischen Reaktion. Bei Registrierung der Atmung läßt sich jedoch praktisch auch bei allen diesen Tieren eine schwache, aber deutliche Sensibilisierung nachweisen.

4. Die intravenöse Injektion von Bovirserin bei Tieren, die mit Boviserin vorbehandelt wurden, ergibt in allen Fällen maximale zum großen Teil tödliche Reaktionen.

Aus unseren Versuchsergebnissen ist zu entnehmen, daß Adaequan Resorba ohne jeden Zweifel noch Reste allergener Eigenschaften besitzt. Die Übertragung derartiger Versuchsergebnisse auf die Verhältnisse am Menschen ist eine Ermessensfrage. Unzweifelhaft ist die Spezies Meerschweinchen hinsichtlich Allergisierung wesentlich empfindlicher als der Mensch. Die heute vorliegenden Veröffentlichungen von über 1000 Infusionen zeigen, daß Adaequan für die Spezies Mensch offenbar genügend antigenfrei ist. Hierbei muß noch hervorgehoben werden, daß die von RÖSE beobachteten Zwischenfälle offenbar auf eine ungenügende Antigenfreiheit einzelner Adaequanchargen zurückzuführen sind.

W. HERTLEIN (Freiburg i.Br.): Über die Ausscheidung und Speicherung von Heparin und Xylanschweifelsäureestern. Durch die Sulfurierung von Polysacchariden wie Stärke, Glykogen, Cellulose, Xylan und andere sind blutgerinnungshemmende Substanzen zu erhalten. So ist das unverzweigte Molekül des Xylans als Xylanschweifelsäureester gut wirksam. Es wird heute unter dem Namen Thrombocid therapeutisch verwendet.

Um die Frage der Ausscheidung und Speicherung blutgerinnungshemmender Stoffe zu klären, indizierten wir Heparin und Xylanschweifelsäureester mit S³⁵.

Der chemische Teil der Untersuchung wurde von Prof. HUSEMANN und Dr. PFANNENMÜLLER durchgeführt. Versuchstiere waren Kaninchen.

Präparate.

Heparin	Z η	0,0557	12,8%	Schwefel
XSE 1	Z η	0,0047	12,2%	Schwefel
XSE 2	Z η	0,012	14,7%	Schwefel.

I. Anteil der verabfolgten Aktivität im Urin 48 Std nach der Injektion von 100 mg/kg.

Heparin	62%
XSE 1	55%
XSE 2	12%.

Auffällig ist die geringe Ausscheidung von XSE 2 mit höherem Polymerisationsgrad und höherem Schwefelgehalt.

II. Anteil der verabfolgten Aktivität in der Leber 48 Std und 3 Wochen nach der Injektion von 100 mg/kg.

	48 Std	3 Wochen
Heparin	2,9%	1,1%
XSE 1	3,4%	1,5%
XSE 2	3,8%	6,3%

Nach 3 Wochen findet man in der Leber bei Heparin und dem Präparat XSE 1 nur noch 50% des 48 Std-Wertes. Bei dem Präparat XSE 2 erfolgt dagegen eine Nachspeicherung, die erheblich über dem 48 Std-Wert liegt.

III. Anteil der verabfolgten Aktivität in der Leber; 5×100 mg/kg im Abstand von 24 Std. Die Tiere wurden 48 Std nach der letzten Injektion getötet.

Heparin	2,8%
XSE 1	1,7%
XSE 2	8,4%.

Nach 5 maliger Injektion steigt der Anteil der verabfolgten Aktivität bei Heparin und dem Präparat XSE 1 auf das 3fache des Wertes einer einmaligen Injektion von 100 mg/kg. Präparat XSE 2 zeigt eine Steigerung um das 10fache.

Wir folgern aus diesem Ergebnis, daß XSE über lange Zeit im Organismus festgehalten wird und daß Ausscheidung und Speicherung vom Polymerisationsgrad und Schwefelgehalt abhängig sind. Bei längerer Anwendung erfolgt in allen Organen eine starke Kumulierung.

J. PICHOTKA (Freiburg i. Br.): Tierexperimentelle Untersuchungen zur Auswertung und Anwendung von Antikoagulantien. Es ist üblich geworden, die Wirkung gerinnungsbeeinflussender Substanzen in Prozent anzugeben. Als Ausgangswert dient dabei der Normalwert verschiedener Systeme und verschiedener Tierarten. Dieser Brauch bringt erhebliche Gefahren mit sich. Die Angabe einer prozentischen Änderung schließt logischerweise die Proportionalität der verwandten Menge oder Konzentration und der beobachteten Abweichung ein; diese Proportionalität besteht aber für keine der gerinnungshemmenden Substanzen. Darüber hinaus müßte die Angabe einer Änderung in Prozent auch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit verschiedenen Substanzen und bei verschiedenen Spezies voraussetzen; das ist noch viel weniger der Fall.

Vergleicht man die Wirkung verschiedener gerinnungshemmender Substanzen bei mehreren Tierarten, so finden sich vollkommen unübersichtliche Verhältnisse. Wir haben die Änderung der Spontangerinnungszeit nach 50 Einheiten (0,5 mg) Heparin (Liquemin Roche) bei Mensch, Hund und Kaninchen verfolgt. Beim Menschen fand sich die stärkste Wirkung, dann kam der Hund, und die geringste Wirkung fand sich beim Kaninchen. Die mit 0,5 mg Heparin wirkungsgleiche Dosis Thrombocid betrug beim Menschen das 4fache, beim Hund das 10fache und beim Kaninchen das 6fache.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß bei der Auswertung von gerinnungshemmenden Substanzen die Übertragung eines Resultates auf einen anderen Dosisbereich, eine andere Spezies oder ein anderes Präparat ohne unmittelbare experimentelle Prüfung unmöglich ist.

Die Anwendung von Antikoagulantien ist im Tierversuch nicht ohne Gefahren. Bei Kaninchen beobachtet man bei kleinen Dosen Heparin mit großer Regelmäßigkeit Temperaturanstiege — im allgemeinen zwischen $0,3$ und $1,5^\circ$. In mehreren Fällen sahen wir nach Dosen von 100 Einheiten pro Kilogramm den Tod der Tiere unter starkem Temperaturanstieg und Kontraktur sämtlicher Muskeln eintreten. In einer Versuchsreihe, in der den Tieren experimentelle Erfrierungen beigebracht wurden und die anschließend mit Heparin behandelt wurden, starb eine große Zahl von Tieren unter diesem Bild. Injektionen innerhalb 2 Std nach dem Trauma waren ohne Folgen. Bei längeren Abständen trat eine zunehmende Häufung der Todesfälle im Anschluß an die Heparin-Injektion ein.

Es wird in der Literatur die Meinung vertreten, daß die Blutungen durch Antikoagulantien hämorrhagischer Natur sind. Diese Annahme konnten wir in unseren Experimenten nicht bestätigen. In einer Versuchsserie mit 222 Tieren, die für längere Zeit mit Heparin behandelt wurden, verloren wir 68 Tiere durch tödliche Blutungen. Die über 3 kg schweren Tiere erhielten alle 6 oder 12 Std 30 mg Liquemin Roche. In 57 vollständig untersuchten Fällen tödlicher Blutung

fanden sich die Blutungen immer im Peritonealraum oder im Retroperitonealraum. In 27 Fällen rührte die Blutung ausschließlich aus zerstörten Bezirken der Leber, in 10 weiteren Fällen war die Leber neben der Rückenmuskulatur die entscheidende Blutungsquelle. Bei 19 Tieren rührte die tödliche Blutung ausschließlich aus der Rückenmuskulatur im Lendenbereich, insbesondere aus dem Psoas. Schließlich nahm bei einem Tier die tödliche Blutung von der Nebenniere ihren Ausgang. Bei einer ganzen Zahl von Tieren trat die tödliche Blutung nach 1 oder 2 Injektionen von 30 mg Heparin ein. In all diesen frühen Blutungen war die Leber die einzige Blutungsquelle.

Freie Diskussion zu Hauptthema II.

DONNER (Bonn) zu KOLLER: Röntgenbestrahlungen bei Krebsträgern führen zu einer strahlungsbedingten Hyperprothrombinämie. Diese geht parallel mit dem Auftreten von Röntgenkater-Beschwerden, so daß hier Zusammenhänge bestehen müssen. Dicumarolverabreichung beseitigt diese Beschwerden. Eine Intensivierung des Röntgenstrahleneffektes wird weiterhin durch gleichzeitige Dicumarolmedikation (Tromexan) erreicht bei Carcinom, Milzvenenthrombose usw. Die kombinierte Behandlung verhindert Strahlenreaktionen wie Lungenfibrose und Abkapselung neoplastischen Gewebes.

KOLLER fragt **DONNER:** Es würde mich interessieren zu erfahren, mit welcher Methode die Hyperprothrombinämie bei Röntgenbestrahlung nachgewiesen wurde.

DONNER antwortet zur Frage **KOLLER:** Die Untersuchungen wurden mit der Zweiphasenmethode (RIEBEN-SCHULZE) durchgeführt.

Hemmungen der Blutgerinnung wurden beobachtet bei der sogenannten Telebestrahlung (nach TESCHENDORF), die bei generalisierter Metastasierung, Leukämie und Lymphogranulomatose angewandt wird.

ZEILE (Ingelheim) zu KOLLER: Nach der Darstellung von Prof. KOLLER gehört das Ca^{++} zum Komplex der Blutthrombokinase. Ist das Ca^{++} auch für die Bildung der Gewebsthrombokinase nötig, oder wirkt es an anderer Stelle des Gerinnungsablaufs. Fertige Gewebsthrombokinasepräparate benötigen zusätzlich Ca^{++} im Gerinnungssystem.

SANDRITTER zu KOLLER: Besteht eine Wirkung des Heparins auf die Thrombozyten in Abscheidungsthromben?

ROKA (Frankfurt) zu KOLLER: Vor einiger Zeit wurde von MARTIN und ROKA ein Gerinnungshemmstoff in myeloischen Leukozyten nachgewiesen, der als Anti-Prothrombin bezeichnet wurde. Nach Abgrenzung von Faktor VII vom PTB wurde der Angriffspunkt des Leukocytengerinnungshemmstoffes erneut von MARTIN geprüft und festgestellt, daß nicht PTB, sondern spezifisch Faktor VII inaktiviert wird.

KOLLER (Zürich) Schlußwort:

Zu ZEILE (Ingelheim): Es steht fest, daß das Calcium auch bei der Gerinnung mit Gewebsthrombokinase unentbehrlich ist. Die Frage, ob es seine Wirkung als Baustein bzw. Aktivator der Gewebsthrombokinase ausübt, oder ob es direkt die Umwandlung des Prothrombins beeinflusst, läßt sich nicht leicht entscheiden, da der Gerinnungsvorgang bei Gegenwart von Gewebsthrombokinase außerordentlich rasch abläuft. Einige Beobachtungen sprechen dafür, daß das Calcium bei der Bildung bzw. Aktivierung der Gewebsthrombokinase in ähnlicher Weise beteiligt ist, wie bei der Bildung der Blutthrombokinase

Zu SANDRITTER (Frankfurt): Das Heparin ist keine einheitliche Substanz. Die im Handel erhältlichen Präparate wirken der Thrombocytenagglutination entgegen. Es sind aber auch Heparinpräparate bekannt, welche die Plättchenagglutination fördern und sich aus diesem Grunde für therapeutische Zwecke nicht eignen. Wenn sich der Plättchenthrombus bereits gebildet hat, ist vom Heparin keine sichere Wirkung zu erwarten.

K. G. EYSHOLDT (Göttingen) zu JÜRGENS: Die hochgestellten Erwartungen wurden nicht in vollem Maße erfüllt. Nachuntersuchungen ergaben, daß Kranke mit frischem Oberschenkelthrombosen mit Ödemen auch nach sofortiger Behandlung mit Heparin und Heparinoiden nicht ganz ohne postthrombotische Schwellungen blieben. Phlebographische Kontrollen frischer Thrombosen zeigten, daß die betroffenen Gefäße nach der Behandlung nicht sofort wieder frei wurden.

Auch im Experiment mit Alexan-Gerinnungsthrombosen der V. jugularis beim Kaninchen konnte sowohl nach Gaben von Heparin als auch nach Thrombocid und Thrombostop keine volle Wiederherstellung der freien Venenbahn erzielt werden, wenn auch im Vergleich zu einer nichtbehandelten Kontrollserie die Gefäße der behandelten Tiere nicht ganz in dem Ausmaß verlegt waren, wie die der unbehandelten.

Wir glauben, aus diesen Untersuchungen schließen zu dürfen, daß die thrombolysische Wirksamkeit von Heparin und Heparinoiden doch weit hinter den Leistungen ihrer thrombostatischen Eigenschaften zurückbleibt.

D. NITZ-LITZOW (Würzburg) zu JÜRGENS: Gemeinsam mit C. MARTIUS wurden Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Cumarinen und Vitamin K durchgeführt. Wir fanden, daß Dicumarol schon in sehr niedrigen Konzentrationen ($6 \cdot 10^{-6}$ m und darunter) die oxydativen Phosphorylierungsprozesse in isolierten Lebermitochondrien stark hemmt (im Mittel 70%) ohne die Atmung zu beeinflussen. Andere Cumarine, deren Wirkung als Anticoagulantia in vivo bereits bekannt war, wirkten auch im Phosphorylierungstest als Inhibitoren und es ergab sich im Vergleich mit den Anticoagulationsindexziffern von K. P. LINK Parallelität zwischen Wirksamkeit im Blutgerinnungstest und im Entkopplungsversuch.

Wir untersuchten ferner substituierte 2-Oxy-1,4-naphthochinone, die in ihrer Struktur dem Vitamin K ebenfalls ähnlich sind in ihrer Wirkung auf die oxydative Phosphorylierung. Von dieser Gruppe zeigte z. B. der Stoff SN 5949 (2-Oxy-3-[2-methyl-octyl]-1,4-naphthochinon) in der Konzentration $5 \cdot 10^{-6}$ m eine 100% ige Hemmung der Phosphorylierung und eine 70% ige Hemmung der Atmung. Substanzen dieser Stoffklasse hemmen also Phosphorylierung und Atmung. Auch bei Substanzen dieser Gruppe ist eine Wirkung auf die Blutgerinnung bereits beobachtet worden.

Wenn man nun annimmt, daß die Wirkung dieser Inhibitoren durch einen Vitamin K-Antagonismus zustande kommt, müßte das Vitamin K sowohl Glied der Atmungskette, als auch eines Systems phosphorylierender Enzyme, also ein Kopplungsglied zwischen Atmung und Phosphorylierung sein. Die Cumarine wirken dann nur auf die weniger strukturspezifische aber empfindlichere Phosphorylierungsfunktion, während Stoffe vom Typ des SN 5949 noch dazu die Funktion des Vitamin K in der Atmungskette ausschalten.

Um eine Wirkung des Vitamin K selbst auf die Atmungskettenphosphorylierung nachweisen zu können, wurden Versuche mit nach DAM Vitamin K-frei ernährten Küken durchgeführt. Die Bestimmung der oxydativen Phosphorylierung ergab, daß bei den Vitamin K-freien Tieren die Phosphorylierung gegenüber den Kontrollen im Mittel um 40% erniedrigt war.

Die Ergebnisse dieser Versuche lassen die Auffassung zu, daß die Beziehungen des Vitamin K zur Prothrombinbildung sekundärer Art sind und das Vitamin K eine weit allgemeinere Bedeutung im Zellstoffwechsel besitzt.

Einzelheiten Biochim. et Biophysica Acta 12, 134 (1953).

R. JÜRGENS (Basel) Schlußwort:

Zu EYSHOLDT (Göttingen): Herrn EYSHOLD ist zuzustimmen, wenn er die hemmende Wirkung von Heparin auf die Thrombusbildung für bedeutsamer hält, als die Thrombolyse, die durch proteolytische Fermente bewirkt wird. Welche Rolle das Heparin dabei spielt, ist noch nicht sichergestellt.

Zu NITZ-LITZOW (Würzburg): Daß Vitamin K nicht allein auf die Prothrombinbildung wirkt, sondern auch allgemeine Wirkungen auf den Zellstoffwechsel besitzt, so z. B. auf die Endothelien der Gefäße, ist möglich. Dies wird durch die mitgeteilte Phosphorylierungserniedrigung bei K-frei ernährten Kücken belegt.

Zu PICHOTKA (Freiburg): Mit ausgewähltem und genügend großem Tiermaterial, das außerdem noch eine Standardernährung erhält, ist es nach unseren Erfahrungen durchaus möglich, vergleichbare Werte über gerinnungshemmende Wirkungen von Antikoagulantien zu erhalten, wie dies auch von vielen Autoren bestätigt wird (LINK, JORPES). Daß beträchtliche Speziesunterschiede bestehen, habe ich in meinem Referat dargelegt.

Nach unseren Erfahrungen und denen anderer Autoren (JORPES), verursacht Heparin keine Temperaturanstiege; falls solche eintreten, beruhen sie auf Beimengungen von Pyrogen. Auch, daß schon mit so kleinen Dosen (100 I.E./kg Tier) Temperaturanstiege, Kontraktur der Muskulatur und Tod der Tiere eintreten soll, können wir nicht bestätigen. Dosierte man sehr hoch, und injiziert mehrere Male täglich, so kann es unter Umständen zu Blutungen kommen, aber eben doch nur unter diesen extremen Bedingungen.

Im allgemeinen verursachten gute pyrogenfreie Heparinpräparate weder Temperatursteigerung noch Blutungen, wenn man im therapeutisch richtigen Dosenbereich bleibt.

Zu HERTLEIN (Freiburg): Die Befunde von HERTLEIN stimmen im wesentlichen überein mit den von A. STUDER gemachten, die demnächst veröffentlicht werden. Nach täglicher intravenöser Verabreichung am Hund verursachen therapieanaloge Dosen gewisser Heparinoide Gewichtsabfall, urämische Symptome und Exitus nach 1—3 Wochen. In verschiedenen Organen werden degenerative und entzündliche Schädigungen beobachtet.

C. Einzelvorträge.

J. HAMACHER und W. VATER (Köln): Einfache, amplitudengetreue Druckregistrierung an Direktschreibern und Oszillographen.

Mit 2 Textabbildungen.

a) Grundlagen und Technik (J. HAMACHER).

Einen kleinen, käuflichen Amplitudenaufnehmer¹, wie ihn heute die Industrie zu Schwingungs- und Verlagerungsmessungen vielfach verwendet, benutzen wir als Plattenmanometerkopf. Dieser tastet die geringen Ausbiegungen der Manometermembran ab und formt sie in Spannungsänderungen eines hineingeschickten Wechselstroms um (Abb. 1).

Seine Arbeitsweise beruht auf dem Prinzip der Kopplungsänderung, ähnlich der „Kardiographischen Sonde“ von WETTERER. Die Größe der Spannungsänderung ist linear abhängig von der Höhe der Ausbiegung des Membranzmittelpunktes. Je nach Frequenz und Stromstärke der Speisenspannung (Trägerfrequenz), die einem entsprechenden Schwingungserzeuger (Oszillator), im einfachsten Fall einem normalen Klingeltransformator (50 Hz), entnommen werden kann, beträgt die Spannungsänderung zwischen 0,02 mV (50 Hz) und 1,25 mV (10 kHz) für je $\frac{1}{1000}$ — eintausendstel — Millimeter Membranverlagerung.

Die Spannungsdifferenz kann einfach, ohne zusätzliche Verstärker an normale EKG bzw. EEG, insbesondere Direktschreiber sowie an Oszillographen angelegt werden. Diese liefern dann eine, durch schnelle Oszillationen des Registriersystems im Takte der Trägerfrequenz, entstandene Bandschreibung, wie sonst bei „Störspannungen“.

Die sich ändernde Breite der Schreibung ist in jedem Zeitmoment eine exakte Maß für die Druckänderung: „Amplitudengetreue Silhouettenschreibung“. Da die Breitenänderung symmetrisch zur Bandmitte erfolgt, ist nur die Breite des Bandes und nicht seine möglicherweise schwankende Lage auf dem Registrierstreifen maßgebend für die Auswertung: „Null-Linienunabhängigkeit“. Außerdem ergibt sich doppelte

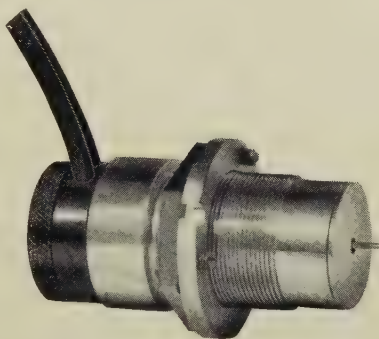


Abb. 1. Amplitudenaufnehmer.

¹ Hersteller: Philips Eindhoven.

Ablesegenauigkeit gegenüber den bisher üblichen Verfahren bei gleich hoher Verstärkung. Ein hoher Druck bewirkt also eine breite Schreibung, ein geringer Druck liefert ein schmales Band (Abb. 2).

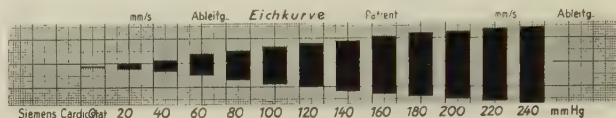


Abb. 2.

Nach diesem Prinzip lassen sich Manometeraggregate hoher Güte bauen für Drucke von wenigen mm H₂O bis zu 300 mm Hg und mehr, deren Meßbereich unter Umständen allein durch Wahl des Verstärkungsfaktors gewählt werden kann.

Auf diese Weise lassen sich neben Schwingungen und schnell veränderlichen Druckvorgängen auch konstante, bzw. sich sehr langsam verändernde Meßwerte vorgangsgetreu, laufend registrieren. Dieses Ergebnis ist sonst nur mit sehr erheblichem Aufwand zu erreichen.

Selbstverständlich läßt sich dieses Meß- und Registrierverfahren neben der Anwendung als Plattenmanometerkopf, die hier als Beispiel gewählt wurde, für mannigfache andere biologische Messungen verwenden.

Das Aufnahmesystem ist so hochwertig, daß es im Falle der Schwingungsmessung weit mehr leistet — 1000 Hz — als selbst bisher beste Manometer für physiologische Zwecke einwandfrei liefern. Die Qualität des erzielten Ergebnisses wird bestimmt durch die Höhe der Trägerfrequenz, die bekanntlich mindestens um den Faktor 4 höher sein muß als der schnellste zu registrierende Vorgang. Die Höhe der Trägerfrequenz wiederum hängt ab von der Trägheit des verwendeten Registriersystems. Untersuchungen mit technischen, elektrischen Schwingungserregern an optimal angepaßten Aggregaten veranschaulichen und beweisen dies.

Manometeraggregate mit unterschiedlichen Membrandimensionen wurden in ihrer Statik mit präzisen Meßgeräten untersucht und sowohl mit angeschlossenen Arterienkanülen wie auch Herzkathetern üblicher Länge und verschiedenen Querschnitts der exakten Schwingungsanalyse unterworfen. Hierbei resultierte eine gute Annäherung der gemessenen Daten an die Theorie.

Wir haben zusätzlich nach diesem Verfahren Druckwerte amplitudengetreu auf Magnettonband aufgenommen und unter Einblendung des Versuchsprotokolls konserviert. Bei der nachträglichen Wiedergabe wurden die interessierenden Stellen herausgegriffen und mittels obiger Registriergeräte in Silhouettenschreibung naturgetreu reproduziert.

(Die technischen Daten finden sich am Ende des Demonstrationsreferates.)

b) *Ergebnisse und Anwendung im Tierversuch und in der Klinik* (W. VATER).

Die Empfindlichkeit des neuen Manometers in Verbindung mit der „Amplitudengetreuen Silhouettenschreibung“ gestattet es am Oszillographen oder am Direktschreiber-EKG physiologische Drucke, deren Änderungen und Pulsationen unmittelbar zu registrieren und zu messen. Die universelle Verwendbarkeit dieses Verfahrens im pharmakologischen Laboratorium erstreckt sich auf die Messung von Vorgängen der Frequenz Null, d. h. statischen oder quasistatischen Vorgängen bis zu höchsten Frequenzen biologischer Druckpulsationen. Je nach Qualitätswünschen wird man zweckmäßig den Elastizitätsmodul des Manometers und die Güte des Registriersystems wählen. Es können mit Direktschreibern Druckabläufe von wenigen cm H₂O bis zu 300 mm Hg lediglich durch Wahl des Verstärkungsfaktors getreu registriert und nach Rhythmus und Proportionalität gemessen werden, also der Bereich von höchsten arteriellen Drucken bis zu niedrigen Venendrucken, deren geringe Druckpulsationen von 2 mm H₂O noch erkennbar sind.

Der Vorteil dieses kombinierten elektrischen Meßgerätes vor den bisherigen Verfahren mechanischer und optischer Registrierung ist die gleichzeitige Registrierung von Drucken zusammen mit elektrophysiologischen Vorgängen und Herztönen. Ein weiterer Vorteil ist die Unabhängigkeit von starren Verbindungen in Bezug auf das Versuchsobjekt.

Für die Klinik, insbesondere für die Herzklinik, steht die intrakardiale Druckmessung am Direktschreiber mit dem einfachen Klingeltransformatorverfahren im Vordergrund. Erwähnenswert ist noch die Tatsache, daß selbst ganz alte EKG-Geräte, die wegen der Störspannungswiedergabe als EKG-Geräte unbrauchbar geworden sind, für die Druckmessung noch gut geeignet sind. Zur Druckmessung genügt das Verfahren vollkommen, weil nach RANKE am Herzkatheter nicht mehr als 8 Hz getreu registriert werden können. Arterien-Venen-Augeninnendruck und Liquordruckmessungen mit der Wirkung bekannter Pharmaka wurden an Kurven gezeigt.

Ein anderes Anwendungsgebiet für die Klinik ist die laufende Überwachung des Liquordrucks, besonders nach Hirnoperationen. Mit Hilfe feinsten Polyäthylenschläuche, die durch die Punktionskanüle geschoben werden und nach Zurückziehen der Nadel als Dauerkatheter liegen bleiben können, kann die Überwachung des Liquordrucks für lange Zeit laufend verfolgt werden; eine Volumenverschiebung findet bei dieser Messung praktisch nicht statt. Dabei kann auf anderen Kanälen des Direktschreibers gleichzeitig das EEG mitlaufen.

Eine Anwendung des Manometers zur unblutigen Druckmessung ist die Blutdruckmessung am Menschen und am Schlingenhund. Diese läßt sich am Direktschreiber-EKG mit dem Klingeltransformatorverfahren

sehr einfach vornehmen. Das System der angelegten Manschette mit angeschlossenem elektrischen Manometer bekommt einen Druck von 300 mm Hg. Beim Abfall des Manschettendrucks wird das KOROTKOFF-Phänomen mittels Piezomikrophon aufgenommen. Dieser elektrische Impuls steuert ein Relais, welches den Ausgang des Meßinstrumentes für $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ sec regelbar kurzschließt (Relais Siemens-Halske Trls 69a TBv 3902/69). Dadurch erhält man das Silhouettenband des fallenden Manschettendrucks mit Aussparungen, die den KOROTKOFFschen Geräuschen entsprechen, d. h. objektiv den systolischen und diastolischen Blutdruck. Durch eine mechanische Vorrichtung wird regelbar bis zu 4mal/min gemessen, wobei zwischendurch der Druck auf Null absinkt. Die unangenehmen Stauungen am Arm werden so für die Dauer vermieden. Eine Spezialkapsel gestattet gleichermaßen die Messung des Blutdrucks am Carotisschlingenhund.

E. KOPPERMANN und W. BRENDEL (Bad Nauheim-Gießen): Der narkotisch veränderte Kreislauf in Abhängigkeit von der allgemeinen Narkosewirkung.

Zur Klärung der Ursachen der Kreislaufveränderungen in Narkose bzw. zur Klärung der Frage der Spezifität dieser Kreislaufveränderungen wurden bei 11 doppelseitigen Carotisschlingenhunden etwa 100 Evipan-, Pernocton- und Chloralose-Narkosen durchgeführt und dabei 1. die Beeinflussung der wesentlichen Kreislauf- und Stoffwechselgrößen und ihre gegenseitigen Beziehungen und 2. die Reaktionsfähigkeit des Kreislaufs auf pharmakologische Reize, Kohlensäure und Carotissinusentlastung in den einzelnen Narkosestadien untersucht.

Methoden. Bestimmung des respiratorischen Stoffwechsels mit DOUGLAS-Sack und Gasuhr. Gasanalyse nach HALDANE. Kreislaufanalyse nach WEZLER/BÖGER einschließlich der unblutig-fortlaufenden Blutdruckregistrierung nach SCHROEDER. — Prüfung der Reaktionsfähigkeit des Kreislaufs in den verschiedenen Narkosestadien durch einseitige Carotissinusentlastung mittels Abklemmen einer Carotis communis, durch Beatmung mit einem 5%igen Kohlensäure-Luftgemisch und durch intravenöse Injektion von 0,1 γ /kg Adrenalin bzw. Arterenol. — Bestimmung der Narkosetiefe durch wiederholte Aufnahme des Reflexstatus. — Narkosedosen bei Evipan 70—90 mg/kg, bei Pernocton 50 bis 60 mg/kg, und bei Chloralose 80—120 mg/kg. — Durchführung der genannten Messungen bei jedem Hund zunächst in Ruhe ohne Narkose, dann in Narkose in Abständen von 30—60 min bis zum Abklingen der Narkose.

Ergebnisse. Bei den 3 untersuchten Narkotica tritt eine qualitativ gleichartige, quantitativ jedoch unterschiedliche Senkung des respira-

torischen Quotienten, des Sauerstoffverbrauchs und des Herzminutenvolumens ein. Diese Reduktion der Stoffwechsel- und Kreislaufgrößen ist in tiefer Narkose am ausgeprägtesten, jedoch sinken Sauerstoffverbrauch und Herzminutenvolumen selbst in diesem Stadium nicht unter die minimalsten, außerhalb der Narkose beobachteten Ruhewerte ab. Dies bedeutet, daß in Narkose Stoffwechsel und Minutenvolumen nur im Sinne einer optimalen Ruhigstellung beeinflußt werden.

Nicht alle Kreislaufveränderungen sind als Anpassungserscheinung an den reduzierten Stoffwechsel aufzufassen. Sie haben — wenigstens teilweise — spezifischen Charakter, wie schon die Tachycardie und die Amplitudeneinengung in Evipan- und Pernocton-Narkose, sowie die arterielle Druckerhöhung vermuten läßt. Für diese zum Teil bestehende Unabhängigkeit der narkotischen Kreislaufumstellungen von den Veränderungen des Stoffwechsels und der Atmung spricht ferner, daß in späteren Narkosestadien der Sauerstoffverbrauch früher als das Herzminutenvolumen seinen Ausgangswert wieder erreicht und daß das Herzminutenvolumen noch stark gesenkt ist, wenn der respiratorische Quotient den Ruhewert bereits überschritten hat.

Die Analyse der Kreislaufreaktivität in den einzelnen Narkosestadien ergab, daß der arterielle Blutdruckanstieg während der Carotissinusentlastung in tiefer Evipan- und Pernocton-Narkose fehlt, ebenso der Druckanstieg während der Kohlensäurebeatmung. Bemerkenswert ist, daß in tiefer Barbitursäure-Narkose die Atmung auf den Kohlensäurereiz noch deutlich mit einer Vergrößerung des Atemvolumens anspricht, während der Kreislauf keine, zumindest keine typische Reaktion mehr aufweist. — Auf i. v. Injektion von 0,1 g/kg Adrenalin reagiert der Kreislauf nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ anders als außerhalb Narkose in Ruhe: Während im unnarkotisierten Zustand nach Adrenalin vorwiegend ein Blutdruckabfall auftritt, findet sich in tiefer Evipan- und Pernocton-Narkose ein steiler, erheblicher Blutdruckanstieg. Mit abklingender Narkose gleicht die Adrenalin-Blutdruckkurve wieder weitgehend der vor der Narkose. Die Arterenol-Blutdruckreaktionen sind während der Barbitursäurenarkose im allgemeinen nicht wesentlich verändert.

In Chloralose-Narkose tritt im Gegensatz zu den Barbitursäure-Narkosen auch bei Dosen bis 120 mg/kg während der Carotissinusentlastung ein arterieller Blutdruckanstieg auf; andererseits fehlt der Druckanstieg während der Kohlensäurebeatmung ebenso wie in Pernocton- und Evipan-Narkose. Nach Adrenalin-Injektion findet sich in tiefer Chloralose-Narkose nach kurzer geringer Blutdrucksteigerung ein verstärkter Blutdruckabfall und nach Arterenol-Injektion bei weniger tiefer Narkose ein verstärkter Blutdruckanstieg.

Zusammenfassung.

Die narkotische Kreislaufumstellung wird als Resultante spezifischer und unspezifischer Narkoseeffekte aufgefaßt, d. h. als Resultante 1. der Anpassung des Kreislaufs an die durch Stoffwechselsenkung bedingten reduzierten Bedürfnisse des Organismus und 2. der direkten spezifischen Wirkung der Narkose auf den Kreislauf bzw. dessen Reflexmechanismus.

Diskussion. KRAUSE (Hannover): Bei gleichartigen Versuchen wurde in Evipan-Narkose die Carotis-Sinus-Entlastung erhalten gefunden, wenn nach Prämedikation von Analgetica die Injektion so langsam durchgeführt wurde, daß keine akute Blutdrucksenkung eintrat.

WEESE fragt nach der Narkosetiefe und weist auf die Wichtigkeit der diesbezüglichen Untersuchungen auch von HEYMANNs (1937) und THAUER (1942) hin, die zu wenig beim Tierversuch berücksichtigt werden.

K. GREEFF (Frankfurt/M.): An Katzen ist der Carotissinusreflex trotz tiefer Narkose nicht aufgehoben, dafür spricht auch, daß wir nach Carotissinuentlastung in Pernoctonnarkose vermehrt Nor-Adrenalin im Nebennierenvenenblut nachweisen konnten. Verursacht jedoch die Narkose — gleichgültig welches Narkoticum benutzt wird — eine stärkere Blutdrucksenkung, so wird allein hierdurch der Entlastungsreflex abgeschwächt sein.

Schlußwort. KOPPERMANN. Zu KRAUSE: Über das Verhalten des Carotissinusreflexes in Evipan-Narkose nach Prämedikation von Analgetica haben wir keine Erfahrung. In reiner Evipan-Narkose fehlt bei Dosen über 70 mg/kg Körpergewicht während der ersten 30 min nach Verabreichung des Narkoticums der CSR, während er bei Dosen unter 50 mg/kg Körpergewicht im entsprechenden Zeitraum noch erhalten ist; ebenso wie er bei Dosen über 70 mg/kg Körpergewicht Evipan 30 min nach Narkosebeginn wieder deutlich wird.

Zu GREEFF: An Katzen fehlen eigene Beobachtungen, da alle unsere Versuche an Hunden ausgeführt worden sind. — Es ist richtig, daß im allgemeinen mit sinkendem arteriellen Druck die Stärke des Entlastungsreflexes abnimmt, doch lassen unsere Ergebnisse nicht den Schluß zu, daß das Ausmaß des Entlastungsreflexes in Narkose ausschließlich durch die Höhe des Ausgangsblutdruckes bedingt ist.

G. WERNER (Calcutta): Die Wirksamkeit zentral lähmender Stoffe an großhirnlosen Tieren.

Thalamustiere bzw. diencephale Tiere zeigen charakteristische Reaktionen und Reflexe, die zur Auswertung der Wirksamkeit zentral lähmender Stoffe herangezogen werden können; solche Reaktionen sind im erstgenannten Falle die Stellreflexe sowie der Sprungreflex (Magnus), während sich bei diencephalen Tieren die typischen Zeichen der „sham rage“ als besonders geeignet erweisen.

An insgesamt 44 Versuchstieren (Katzen) konnte gezeigt werden, daß die Empfindlichkeit der Tiere für Pentothal-Natrium und Largactil (RP 4560; Chloro-dimethylamino-3' propyl-10 phenothiazin) nach operativer Entfernung der Großhirnrinde (in Äthernarkose) deutlich erhöht ist:

Dosen dieser Stoffe, die vor der Operation völlig unwirksam waren, bewirken vollkommene Hemmung der oben erwähnten Reaktionen, wenn neuerliche Tests 5—10 Std nach der Durchführung des Eingriffes wiederholt wurden. Die Differenz der vor und nach der Entfernung der Großhirnrinde wirksamen Dosen war bei Largactil beträchtlich: zumindest 1,0—3,0 mg/(intravenös) sind an Normaltieren erforderlich, um eben Anzeichen von Schläfrigkeit hervorzurufen, während schon 250 μ g/kg zum angegebenen Zeitpunkt nach der Operation für mehrere Stunden jede Spontanaktivität aufheben und die Tiere vorübergehend vollkommen refraktär gegen Schmerzreize machen. (Entsprechende Kontrollen zur Ausschaltung einer kumulativen Wirkung der injizierten Stoffe sowie der Äthernarkose wurden durchgeführt.) Auffallend ist auch die hochgradige und mehrere Stunden anhaltende Tonussenkung, die schon nach Dosen von 100 μ g/kg Largactil an decortizierten bzw. diencephalen Tieren zu beobachten ist. Im Vergleich dazu wird die Wirksamkeit von Pentothal an den operierten Tieren nur etwa verdoppelt.

Bilaterale oberflächliche Incisionen an der Basis der Frontallappen knapp vor dem Chiasma optici bewirkt ebenfalls „sham rage“, jedoch ist die Empfindlichkeit solcher Tiere für Largactil und Pentothal unverändert. Erst wenn zusätzlich Incisionen an der dorsolateralen Oberfläche des Frontallappens oder des Temporallappens angelegt werden, wodurch das Verhalten der Tiere nicht geändert wird, gewinnen sie wieder die für decortizierte Tiere charakteristische Empfindlichkeit.

Auffallend ist, daß das Bestehen der emotionellen Enthemmung an sich nicht in allen Fällen zu einer Empfindlichkeitssteigerung für die genannten zentralhemmenden Stoffe führt; es erscheint vielmehr notwendig, daß zumindest bestimmte Gebiete des Frontal- und Temporallappens abgetrennt bzw. ihre Verbindung zu subcorticalen Gebieten durchschnitten werden. Offenbar werden die verbleibenden Anteile des Zentralnervensystems nach Abtrennung von Rindenarealen wegen der Unterbrechung corticothalamischer Rückmeldebahnen für zentral lähmende Stoffe empfindlicher, wobei bezüglich des Ausmaßes der Wirkungssteigerung für verschiedene Substanzen mit zentral hemmender Wirkung individuelle Unterschiede bestehen können.

G. WILHELMI (Basel): Beitrag zur Frage der Stimulation des Hypophysen-Nebennieren-Systems durch Pyrazole.

Eine Reihe von gemeinsamen Eigenschaften der Pyrazole und anderer Antipyretika einerseits und von ACTH und Cortison andererseits, wie die antirheumatische, antiphlogistische, antipyretische, die diuresehemmende und andere Wirkungen lassen an die Möglichkeit einer Stimulation des Hypophysen-Nebennieren-Systems durch die Pyrazole denken.

Hierbei wurde wiederholt auf den positiven Ausfall des THORN-Tests, Veränderungen der Nebennierenrinde in bezug auf ihren Gehalt an Lipoiden und L-Ascorbinsäure, auf die Beeinflussung der Aminosäuren-Ausscheidung, somit auf die verschiedensten Befunde, die als Kriterien für eine stimulierende Wirkung auf die Hypophysen-Nebennieren-Achse gelten, hingewiesen. Für die Präparate Diphenyldioxobutylpyrazolidin (Butazolidin) und Dimethylaminoantipyrin (Dipyrin), sowie das Gemisch beider (Irgapyrin) sind jedoch positive wie negative Befunde aus der Klinik und nach dem Tierexperiment mitgeteilt worden, so daß das Bild reichlich unklar erschien.

In neuen tierexperimentellen Studien konnten wir mit der Methode nach BONSMANN¹ nach hohen Butazolidin- und Dipyrindosen an der Maus eine vorübergehende Wasserretention nachweisen.

Der THORN-Test an Maus und Ratte zeigte nach beiden Pyrazolpräparaten und deren Kombination (Irgapyrin) beträchtliche Schwankungen, doch war die Zahl der eosinophilen Zellen des Blutes bei den meisten Tieren vermindert.

In Anbetracht der uneinheitlichen klinischen und experimentellen Befunde, wie auch nach denjenigen von DOMENJOZ² über die Beeinflussung des Lipoid- und Vitamin C-Gehaltes der Nebennieren und anderen Versuchen erschien es fraglich, ob diese Präparate tatsächlich durch Vermittlung der Hypophyse, bzw. der Nebennieren zur Wirkung gelangen.

Es wurden daher Entzündungsversuche mit adrenaletomierten Ratten angestellt, wobei wir uns des Formalin-Ödems an der Hinterpfote und der UV-Licht-Entzündung der Bauchhaut bedienten. Der Grad der entzündlichen Veränderungen wurde durch Messung der Pfotenvolumina vor und 2 Std nach der Formalin-Injektion, bzw. durch Zählen der nekrosefreien bestrahlten Hautstellen bestimmt.

Es zeigt sich nun, daß die antiphlogistische Wirkung der Pyrazolpräparate Dipyrin, Butazolidin und Irgapyrin bei den adrenaletomierten Ratten nur wenig schwächer war als bei den Normaltieren.

Es sei erwähnt, daß sich Butazolidin nach DOMENJOZ² — ebenfalls am Beispiel des Formalin-Ödems — an der nebennierenlosen und auch an der hypophysektomierten Ratte als antiphlogistisch wirksam erwiesen hat.

Aus diesen Untersuchungen geht somit hervor, daß die antiphlogistische Wirkung der Pyrazole nicht ausschließlich durch Vermittlung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems zustande kommen kann. Aus der Tatsache, daß der entzündungshemmende Effekt dieser Präparate am

¹ BONSMANN, M. R.: Diurese-Versuche an der Maus. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **174**, 453 (1934); **175**, 322 (1934).

² DOMENJOZ, R.: Pharmacological Evaluation of Anti-inflammatory Agents; A Contribution to the Pharmacology of Phenylbutazone (im Druck).

Normaltier etwas intensiver ist als an nebennierenlosen Ratten und vielleicht auch nach den Beobachtungen über die Verminderung der eosinophilen Blutzellen am Tier und der antidiuretischen Wirkung usw. kann aber vermutet werden, daß durch hohe Pyrazoldosen eine geringe Stimulation der Hypophysen-Nebennieren-Achse zustande kommen kann. Dieser sicher wenig spezifische Effekt kann jedoch — neben den bekannten zentralen und peripheren Mechanismen, bei denen neuerdings auch ein lokaler Angriffspunkt der Pyrazole am Entzündungsherd selbst nachgewiesen wurde — nur als zusätzliche Wirkungskomponente gedeutet werden.

K. STENGER (Göttingen): Tierexperimentelle Untersuchungen über Labyrinthreflexe am Magen-Darm-Kanal und deren Beeinflussung mit Latibon und Megaphen.

Mit 6 Textabbildungen.

Das Krankheitsbild der parenteral bedingten Dyspepsie und Toxikose des Säuglings wird in hohem Prozentsatz durch eine Otitis media ausgelöst. Die Schwere der Erkrankung wird dabei keineswegs durch die Art des die Otitis media auslösenden Erregers bestimmt, und die Krankheitsbilder entsprechen einander, gleichgültig ob Pneumo-, Staphylo-, Streptokokken, Coli usw. im Ohreiter gefunden werden. Da hierbei offensichtlich unspezifische Vorgänge eine große Rolle spielen, wurde an jungen Hunden durch Injektion von 98%igem Alkohol, Crotonöl, Senföl oder Cantharidenpulver eine Otitis nachgeahmt und ein der Säuglingstoxikose weitgehend entsprechendes Krankheitsbild ausgelöst. Schon kurz nach der Injektion stellen sich zahlreiche charakteristische Veränderungen ein, wie z. B. Temperatursteigerung, Blutdrucksenkung, Veränderungen der Atemfrequenz, Atemtiefe und -motorik, Tonusänderung der Skelettmuskulatur, Nystagmus (frühzeitig nur bei Alkoholinjektionen) usw. Nach mehr oder weniger langer Zeit treten Durchfälle auf. Die Störungen am Magen-Darm-Kanal lassen sich röntgenologisch leicht beobachten. Am Magen findet man hochgradige Atonie, Verlängerung der Magenverweildauer und Sekretionsstörung und am Darmkanal zeigen sich atonische und hypertonische Darmabschnitte dicht nebeneinander.

Das tierexperimentell ausgelöste Krankheitsbild wurde als reflektorisch bedingt angesehen. Der Beweis für diese Auffassung ließ sich u. a. dadurch erbringen, daß nach Durchschneidung des N. vestibularis der Reizeffekt der erwähnten Mittel ausblieb.

Es lag nahe, nach Substanzen zu suchen, die in der Lage sind, die Reizeffekte zu unterdrücken. Hierzu schienen die Phenothiazinderivate Megaphen und Latibon geeignet. Die Versuche, bei denen Megaphen in

einer Dosierung von 5—18 mg/kg intramuskulär verabreicht wurde, erbrachten jedoch nicht das gewünschte Ergebnis. Die Kombination von je 5 mg Latibon und Megaphen war ebenfalls nicht in der Lage, die Magen-Darm-Veränderungen zu verhindern. Das gelang erst zuverlässig



Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 1. Gesundes Tier. Röntg.-A. 20 min nach Verabreichung von Kontrastmittel.

Abb. 2. Das gleiche Tier wie in Abb. 1 24 Std später. Kontrastmittelverabreichung 1 Std nach Alkoholinjektion (0,1 cm³) in die Paukenhöhle; Röntg.-A. 20 min später: Atonischer Magen, keine Darmfüllung.

Abb. 3. Röntg.-A. 2 Std nach Kontrastmittelverabreichung. Der Füllungszustand entspricht etwa demjenigen wie Abb. 1. Atonie des Magens und oberen Dünndarmes.

[Abb. 1—3 entnommen: STENGER: Z. Kinderheilk. 67, 669 (1950).]

mit der Kombination von Megaphen und Latibon in einer Dosierung von je 10—12 mg/kg (Abb. 4—6), wobei gesunde Vergleichstiere keine Störung der Magen-Darm-Peristaltik zeigten (bei einem Tier wurde eine stärkere Aerophagie beobachtet, die zu einer erheblichen Dilatation des Magens führte).

Da sich auch die nach den Injektionen ins Mittelohr auftretenden Temperaturerhöhungen, Blutdrucksenkung, Veränderung der Atmung und der Nystagmus (nach Alkoholinjektion) verhindern lassen, ergibt sich aus den geschilderten Versuchen vor allem die *Schlußfolgerung*, daß experimentell vom Mittelohr ausgelöste Vestibularisreflexe, die sich in der Medulla oblongata ausbreiten und bis in das Mittelhirn und den Hypothalamus auswirken, sich durch Vorbehandlung mit Megaphen und

Latibon unterdrücken lassen, wobei dem Latibon offenbar die größere Bedeutung zukommt.

Diskussion H. F. ZIPF (Bonn): Für das geschilderte reflektorische Syndrom kann eine zweifache Wirkung des Megaphen diskutiert werden. Einmal eine zentrale Synapsendämpfung. Diese läßt sich nach unseren Versuchen z. B. an der verringerten Anstiegsgeschwindigkeit bei pressorischer (oder Abstiegsgeschwindigkeit

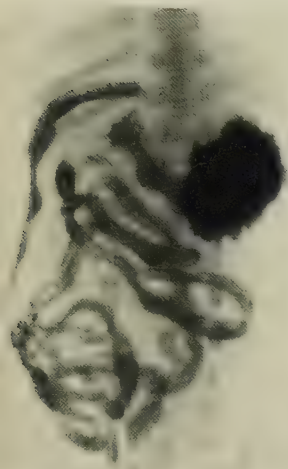


Abb. 4.



Abb. 5.



Abb. 6.

Abb. 4—6. Tier 191. 1970 g.

16.31 h je 10 mg Megaphen und Latibon/kg i.m.

18.04 h 0,1 cm³ 98% igen Alkohol in die linke Paukenhöhle injiziert.

18.50 h Kontrastmittel durch Magensonde verabreicht.

18.58 h 1. Röntgen-A. (Abb. 4).

19.39 h 2. Röntgen-A. (Abb. 5).

21.12 h 3. Röntgen-A. (Abb. 6).

Röntgenologisch: Normalbefund.

bei depressorischer) Blutdruckwirkung der elektrischen Reizung des afferenten Vagus zeigen. Sie ist durch Cardiazol wieder rückgängig zu machen. Zum anderen kann auch eine gewisse endoanaesthetische Wirkung angenommen werden, da Megaphen eine lokalanaesthetische Wirkungskomponente besitzt.

E. HABERMANN (Würzburg): Zur Pharmakologie des Melittin.

Auf dem letzten Kongreß berichtete ich über die Differenzierung von biologisch aktiven Substanzen im Bienengift. Inzwischen fanden sich weitere pharmakologische und biochemische Tatsachen, welche gleichzeitig einige Aussagen über Wirkungsmechanismus und chemische Natur der beteiligten Komponenten ermöglichen. In der elektrophoretischen Fraktion I findet sich nur pharmakologische Aktivität im engeren Sinne, während Fraktion II die gesamte bisher bekannte Fermentaktivität von Bienengift enthält. Insbesondere sei hier auf die mit der Phospholipase in

der gleichen Fraktion wandernde Hyaluronidase hingewiesen, welche recht labil ist und sich von den bisher bekannten Hyaluronidasen erheblich unterscheidet. Bienengift besitzt im Vergleich zu den bisher untersuchten Schlangengiften eine weitaus größere Hyaluronidase-Aktivität.

Inzwischen gelang es F. G. FISCHER und W. P. NEUMANN im Chemischen Institut Würzburg, die von uns elektrophoretisch gewonnene Fraktion I auch chromatographisch zu isolieren. Der Stoff ist ein Vertreter einer neuen Klasse pharmakologisch hochwirksamer Eiweißstoffe. Er enthält weder schwefelhaltige noch aromatische Aminosäuren außer Tryptophan und auch kein Histidin. Wir bezeichnen ihn wegen des Vorkommens im Bienengift — Melitta: die Biene — als Melittin.

Melittin wirkt unter anderem auf den Blutdruck und greift an den neuromuskulären und an den ganglionären Synapsen an.

Hohe initiale Dosen, und nur diese, führen zu starker Blutdrucksenkung, welche von vorübergehendem Atemstillstand und starken, vagalen, reversiblen EKG-Veränderungen begleitet und möglicherweise auf einen JARISCH-BEZOLD-Reflex zurückzuführen ist. Gibt man ein zweites oder drittes Mal die gleiche Dosis, so findet man zunächst eine kurzdauernde Blutdrucksenkung, anschließend eine eminente Steigerung. Schließlich tritt Atemlähmung ein. Auch wenn man künstlich beatmet, kommt es später zu schweren EKG-Veränderungen, welche im Gegensatz zu den initialen EKG-Erscheinungen irreversibel sind. Diese biphasische, nicotinartige Blutdruckwirkung ist im wesentlichen peripherer Natur; sie ist weder durch Dekapitation und gleichzeitige Nebennierenausschaltung, noch durch Atropinisierung oder Behandlung mit Avil aufzuheben. Am isolierten Kaninchenohr wirkt Melittin je nach Konzentration und Reaktionslage des Präparates kontrahierend oder erschlaffend, am LÄWEN-TRENDELENBURGSchen Präparat nur kontrahierend.

Nach HOFMANN schädigt Bienengift am isolierten Rattenzwerchfell nach initialer Kontraktur zunächst die indirekte, später auch die direkte Erregbarkeit. Melittin tut qualitativ und quantitativ das Gleiche. Wegen der begleitenden Kontraktur gehören aber Melittin, Bienen- und Schlangengift mehr zum Dekamethoniumtyp als zum Curaretyp der neuromuskulären Block erzeugenden Substanzen; allerdings bestehen auch gegenüber den Methoniumverbindungen erhebliche Unterschiede.

Das isoliert durchströmte Ganglion cervicale superius der Katze wird, wenn wir von Einzelheiten absehen, durch Bienengift, Melittin, Cobragift und Lysocithin in relativ niedrigen Konzentrationen erregt, in höheren gelähmt.

Die Melittin-Hämolyse weist gegenüber anderen Hämolysen wesentliche Besonderheiten auf. Bei Einwirkung höherer Konzentrationen (1:10000) tritt der Blutfarbstoff sehr schnell aus. Der Erythrocyt wird massiv verändert. Er zerfällt nicht, sondern schrumpft auf etwa die

Hälfte des ursprünglichen Durchmessers zusammen, wird starr, rund und stark lichtbrechend. Elektronenoptisch findet man die Membran verdickt und in ein durchlöchertes, netzartiges Gebilde umgewandelt. Mikroschnitte, welche Fräulein Dr. MÖLBERT vom Würzburger Hygienischen Institut auf unsere Veranlassung anfertigte, beweisen, daß das Netz in zwei Dimensionen aufgebaut ist und daß das Innere des Erythrocyten auch bei dieser Art der Hämolyse leer ist. Man fragt sich, ob man bei solcher Art von Zerstörung des Erythrocyten überhaupt von Hämolyse sprechen darf. Die Lysocithinhämolyse, welche früher gelegentlich mit der Bienengifthämolyse zusammengeworfen wurde, führt jedenfalls zu ganz anderen Veränderungen; hier tritt tatsächlich eine komplette Lyse des Erythrocytenstromas ein, so daß licht- und elektronenoptisch nur noch einige Körnchen nachweisbar sind. Dagegen konnten bisher bei niedrigen Lysocithinkonzentrationen (1:100 000—1:1 000 000) ebenso wenig wie bei niedrigen Bienengift- oder Melittinkonzentrationen wesentliche Veränderungen des Erythrocytenstromas deutlich gemacht werden.

Noch ein Wort zur Frage des Wirkungsmechanismus: Melittin besitzt drei sehr wichtige physikalisch-chemische Eigenschaften: sein isoelektrischer Punkt liegt weit im Alkalischen (jenseits von p_H 10); es wird unter bestimmten Umständen stark adsorbiert und es erniedrigt schließlich die Oberflächenspannung des Wassers sehr stark. Es ist möglich, daß die biologische Wirkung, z. B. auf die roten Blutkörperchen mit diesen Eigenschaften zusammenhängt. Wir hoffen, an diesem chemisch wie pharmakologisch gleicherweise interessanten Eiweißkörper weitere Einblicke in die Zusammenhänge zwischen Struktur und biologischer Wirkung zu erhalten.

KARL CREDNER (Hann.-Münden): Stimulierung vegetativer Ganglien durch eine quaternäre Ammoniumverbindung.

Im Rahmen einer größeren Versuchsreihe wurden der cholinerge Effekt der quaternären Ammoniumbase Benzyltrimethylammoniumbromid mit Acetylcholin verglichen und Abkömmlinge dieser Substanz untersucht, die am Phenylring mit Brom halogeniert waren. Dabei ergaben sich, je nach Stellung der Substitution, wirkungsmäßig interessante Unterschiede.

Die ortho-bromsubstituierte Verbindung besitzt nur einen geringen cholinergen Effekt im Gegensatz zu der meta-bromsubstituierten Verbindung. Letztere ist am Katzenblutdruck 20—30mal weniger wirksam als Acetylcholin, aber 2—3mal so wirksam wie die halogenfreie Muttersubstanz.

Die para-bromsubstituierte Verbindung löst in Dosen bis zu 50 γ /kg i. v. am Katzen- und Hundebloodruck eine geringfügige Blutdrucksenkung aus; Dosen ab 70 γ /kg i. v. rufen dagegen bei nicht atropinisierten

Tieren einen adrenalinähnlichen Blutdruckanstieg hervor. Dosen ab 300 bis 400 γ /kg i. v. wirken toxisch, es kommt zum Auftreten fibrillärer Muskelzuckungen, ferner sekundär im Anschluß an die Blutdrucksteigerung zu einer Blutdrucksenkung mit Atemlähmung, die zum Exitus führt. Atropinisierung der Versuchstiere verstärkt stets den pressorischen Effekt, dagegen ist durch Cocain keine Sensibilisierung zu erzielen. Die para-bromsubstituierte Verbindung bewirkt außerdem eine Pupillenerweiterung mit Nickhautkontraktion, eine Blutzuckersteigerung und eine kurzfristige Lähmung des Darmes in situ nach STRAUB. Die Gefäße des isoliert durchströmten Kaninchenohres zeigen nur in einem bestimmten Dosenbereich (Injektion von 20—40 γ in die Durchströmungsflüssigkeit) eine schwache, flüchtige Konstriktion, die sich durch Ganglienblocker aufheben läßt. Yohimbin reduziert den pressorischen Effekt der para-bromsubstituierten Verbindung erheblich, doch nicht in dem Maße, wie eine äquipressorische Noradrenalin-Dosis. Ganglienblocker dagegen heben sowohl den pressorischen Effekt als auch die Darmhemmung völlig auf; Nebennierenentfernung verursacht lediglich eine 50%ige Abschwächung der Blutdruckwirkung.

Am isolierten Meerschweinchendarm besitzt die Verbindung bei einer Konzentration von 10^{-5} einen erregenden Effekt, der durch Atropin völlig aufgehoben wird. Am isolierten Kaninchendarm läßt sich die erregende Wirkung der gleichen Dosen erst durch Atropin zusammen mit einem Ganglienblocker beseitigen.

Kleine, unterschwellige Dosen vermögen außerdem am isolierten Darm den Acetylcholin-Effekt weitgehend zu hemmen.

Am isolierten Froschherzen zeigt sich ein komplexes Wirkungsbild: Kräftige Froschherzen mit großer Amplitude, die gleichzeitig auf Adrenalin sehr wenig empfindlich sind, lassen selbst nach Atropin keinen Effekt erkennen. Herzen, die bereits auf sehr kleine Mengen Adrenalin ansprechen, reagieren nach Injektion von 50—200 γ der para-bromsubstituierten Verbindung mit einem positiv inotropen und chronotropen Effekt, der sich durch Ganglienblocker aufheben läßt. Herzen, die sehr empfindlich gegenüber Acetylcholin sind, zeigen nach Zugabe der para-bromsubstituierten Verbindung einen negativ inotropen Effekt, der durch Ganglienblocker nicht zu beeinflussen, wohl aber atropinempfindlich ist.

Wie am isolierten Darm, so läßt sich auch am Herzen der negativ inotrope und chronotrope Effekt des Acetylcholins durch die para-bromsubstituierte Verbindung verhindern bzw. unterbrechen. Nicotin und die ortho-bromsubstituierte Verbindung verfügen nicht über diese Eigenschaft.

Eine gangliolytische Wirkung der para-bromsubstituierten Verbindung gelangte am isoliert durchströmten Kaninchenohr zur Beobachtung.

Injektionen ab 100 γ in die Durchströmungsflüssigkeit heben den konstriktorischen Effekt von 20—40 γ Nicotin vorübergehend auf. Die para-bromsubstituierte Verbindung bewirkt demnach eine Stimulierung der Umschaltstellen von prä- auf postganglionäre Fasern im vegetativen System unter Mitbeteiligung des Nebennierenmarkes. Am Ganztier steht die Reizung sympathischer Synapsen im Vordergrund. Der Befund am isolierten Kaninchendarm weist aber darauf hin, daß auch parasymphatische Ganglien von dieser chemischen Erregung mitbetroffen werden können. Am isolierten Darm und Froschherzen wirkt die para-bromsubstituierte Verbindung im Gegensatz zur ortho-bromsubstituierten Verbindung und zum Nicotin antagonistisch gegenüber Acetylcholin.

W. OELSSNER (Leipzig): Die Novocainentgiftung des Meerschweinchens.

Urethan-narkotisierte Meerschweinchen erhielten verschiedene Novocainmengen mit konstanter Geschwindigkeit jeweils bis zum Atemstillstand infundiert. In einer unverzüglich danach entnommenen Blutprobe wurde außerdem der Blutspiegel an Novocain und abgespaltener p-Aminobenzoesäure (PAB) chemisch bestimmt.

Trägt man die Mittelwerte der Überlebenszeiten bei verschiedenen Infusionsgeschwindigkeiten graphisch gegen die jeweils infundierte Gesamtmenge Novocain auf, so liegen nahezu alle Punkte auf einer Geraden. Die mathematische Fassung führt zu der einfachen Gleichung:

$$V_i \cdot t \text{ bzw. mg/kg infundiert} = (V_e \cdot t) + D,$$

wobei V_i die Infusionsgeschwindigkeit, V_e die Entgiftungsgeschwindigkeit jeweils in mg/kg/min, t die Überlebenszeit in Minuten und D der Schnittpunkt der Ordinate bedeuten. Die Neigung der Geraden entspricht der Entgiftungsgeschwindigkeit, die sich aus der graphischen Darstellung mit 3,28 mg/kg/min ergibt. Der Ordinatenschnittpunkt D (= 30,8 mg/kg) stellt die tödliche Dosis bei unendlich schneller Infusion dar und kann offenbar als relativer Maßstab für die Empfindlichkeit des Atemzentrums gegenüber dem lähmenden Gift Novocain betrachtet werden.

Aus den Ergebnissen der Blutspiegelbestimmungen läßt sich darüberhinaus die Entgiftungsgeschwindigkeit für jedes Einzeltier auf Grund folgender Überlegung berechnen. Nach unseren Erfahrungen und in Übereinstimmung mit Beobachtungen von BURGEN und KEELE an Katzen (Brit. J. Pharmacol. 3, 128, 1948) wächst die Novocainentgiftung mit steigender Infusionsgeschwindigkeit bis zu einem für jedes Tier individuell verschiedenen Optimalwert, der auch bei weiterer Erhöhung der Zufuhr unverändert bleibt. Unter dieser Bedingung ist bei konstanter Infusions- und Entgiftungsgeschwindigkeit das Verhältnis von ungespaltenem zu gespaltenem Novocain in jedem Zeitpunkt der Infusion

das gleiche. Vorausgesetzt, daß während der Versuchsdauer weder Novocain noch PAB ins Gewebe abwandern oder ausgeschieden werden bzw. dies für beide Stoffe in gleichem Umfange eintritt, muß sich diese Beziehung, ausgedrückt in γ Novocain bzw. PAB/ml, auch im Blute finden. Das Mol-Gewicht der PAB ist mit ausreichender Genauigkeit die Hälfte desjenigen von Novocain. Mathematisch formuliert bedeutet das:

$$\frac{V_t - V_e}{V_e/2} = Q = \frac{\gamma \text{ Novocain/ml Blut}}{\gamma \text{ PAB/ml Blut}} = Q'.$$

Die nach diesem Verfahren errechnete mittlere Entgiftungsgeschwindigkeit aller Versuche betrug 3,18, der mit der graphischen Methode gewonnene Wert 3,28 mg/kg/min.

Die Bedeutung von V_e und D geht auch aus der graphischen Auswertung von Versuchen der beiden Autoren HULPIEU und COLE (J. Pharmacol. **99**, 370, 1950) hervor, die bei Hunden Novocain mit verschiedenen Geschwindigkeiten jeweils bis zum Atemstillstand infundierten und dabei neben einer Thiopental-Narkose auch Äther und Chloroform verwendeten. Dabei wird nicht nur die Entgiftungsgeschwindigkeit von 2,28 mg/kg/min in Thiopental-Narkose auf 1,37 in Chloroform- bzw. 0,78 mg/kg/min in Äther-Narkose erniedrigt, sondern auch D von 75 auf 60 bzw. 30 mg/kg gesenkt, offensichtlich als Ausdruck einer quantitativ unterschiedlichen Anlähmung und damit Resistenzminderung des Atemzentrums gegenüber Novocain.

Eigene Versuche ergaben bei gleichzeitiger Infusion des Esterase-Hemmstoffes Mintacol (0,02 mg/kg/min) einen Abfall von V_e auf 2,31 mg/kg/min und gleichzeitig — offenbar durch eine erregende Wirkung des Mintacol auf das Atemzentrum — eine Erhöhung von D .

K. H. GINZEL und S. R. KOTTEGA (Oxford): Die Wirkung von Nicotin und Hexamethonium am normalen und chronisch denervierten Herzvorhofpräparat und am Kaninchenohr.

In den letzten Jahren ist eine Reihe von Wirkungen des Nicotins (Ni) und des Acetylcholins (Ach) bekannt geworden, die sich nicht ohne weiteres den klassischen nicotinartigen Wirkungen auf motorische Endplatte und autonome Ganglien zuordnen lassen. So z. B. haben HOFFMANN, HOFFMANN, MIDDLETON und TALESNIK 1945 beobachtet, daß Ach am isolierten Säugetierherz in Gegenwart von Atropin eine erregende Wirkung besitzt, die durch Curare, durch hohe Dosen von Nicotin, sowie durch Ergotamin ausgeschaltet werden kann. Im Coronarperfusat wurde dabei eine adrenalinähnliche Substanz festgestellt. Ähnliche Befunde wurden später am atropinisierten Herz auch bei Vagusreizung erhoben. Aus diesen Beobachtungen wurde gefolgert, daß entweder sympathische Ganglien oder chromaffine Gewebselemente im Herzen selbst vorhanden

und an diesen Wirkungen beteiligt wären. McDOWALL hingegen hielt eine direkte erregende Wirkung von Acetylcholin auf den Herzmuskel für wahrscheinlicher.

Auch am isolierten Vorhof des Kaninchenherzens tritt eine adrenalin-ähnliche Wirkung mit Zunahme von Schlagfolge und Amplitude ein, wenn Ach oder Ni dem atropinvorbehandelten Präparat zugesetzt werden. Dieser stimulierende Effekt kann durch Hexamethonium (C_6) unterdrückt werden, während selbst 20fach höhere Dosen dieser Substanz die Wirkung von Adrenalin auf den Herzvorhof völlig unbeeinflusst lassen. Ganz analoge Verhältnisse wurden am Gefäßpräparat des isoliert durchströmten Kaninchenohres nach der Methode von BURN und ROBINSON gefunden. Ni und auch Ach (am frischen Präparat nur in Gegenwart von Atropin) verursachen eine Gefäßverengung, die unter C_6 ausbleibt. Ebenso heben Priscol oder Dibenamin diese Vasokonstriktion auf bzw. kehren sie in eine Vasodilatation, die ihrerseits durch C_6 beseitigt werden kann, um. Die durch Ni und Ach hervorgerufene Gefäßwirkung unterscheidet sich von der des Adrenalins dadurch, daß letztere auch durch excessive Dosen von C_6 nicht verhindert wird. Es lag daher nahe, auch an diesem Präparat an eine indirekte, durch Adrenalin vermittelte Wirkung von Ni zu denken.

In der Tat besitzt die aus dem Kaninchenohr ausfließende RINGER-Lösung nach Nikotininjektion eine fördernde Wirkung auf das Froschherz; die Untersuchungen hierüber sind jedoch noch nicht abgeschlossen.

Die Tatsache, daß eine gegebene Wirkung einer Substanz durch C_6 aufgehoben wird, hat bis vor kurzem zu der Schlußfolgerung verleitet, es müsse sich dabei um eine Wirkung auf autonome Ganglien handeln. DOUGLAS und GRAY haben jedoch vor einigen Monaten zeigen können, daß die durch Ach und Ni bedingte Erregung sensorischer Nervenendigungen, wie sie 1948 von BROWN und GRAY demonstriert worden war, unter C_6 ausbleibt. Diese hemmende Wirkung von C_6 , die sich nicht auf die Blockade von mechanisch ausgelösten afferenten Impulsen erstreckt, wurde nach Ausschluß anderer Möglichkeiten als eine direkte Wirkung auf sensorische Nervenendigungen erkannt.

Dieser und ein von COON und ROTHMAN 1940 erhobener Befund waren für die weiteren Untersuchungen maßgebend. COON und ROTHMAN fanden, daß subcutane Injektion von Ni oder Ach in den Katzenschwanz zu einer pilomotorischen Reaktion, einer Schweißsekretion und Vasokonstriktion in einem der Injektionsstelle nahegelegenen umschriebenen Bezirk führt. Die pilomotorische Reaktion sowie die lokale Gefäßverengung blieben unter Atropin in unveränderter Weise auslösbar. verschwanden jedoch nach intraarterieller Injektion von Antiadrenalin-substanzen. Akute Durchtrennung des gemischten Nerven des Katzenschwanzes hatte keinen Einfluß, während nach chronischer Degeneration

der Sympathicusfasern die geschilderten Effekte von Ach und Ni ausblieben. Demnach dürften, so nahmen die Autoren an, diese Wirkungen auf einer Erregung von Endigungen postganglionärer sympathischer Fasern beruhen, die über Axonreflexe die entsprechenden Erscheinungen hervorruft. Eine lokale Gänsehautreaktion wurde auch beim Menschen nach intracutaner Injektion von Ni am Unterarm beobachtet; durch Tetraäthylammonium konnte ihr Auftreten verhindert werden.

Auf Grund dieser Ergebnisse war eine Erregung von Nervenendigungen und deren Blockade durch C_6 sowie die Beteiligung von Axonreflexen an der stimulierenden Herz- und Gefäßwirkung von Ni und Ach zunächst nicht auszuschließen. Zur Entscheidung dieser Frage wurden Vorhofpräparate von Katzenherzen hergestellt, deren sympathische Innervation durch Entfernung beider Ganglia stellata 2—3 Wochen vorher beseitigt worden war. Diese Präparate verhielten sich nach Atropinvorbehandlung gegenüber Ach und Ni genau so wie jene, die von nicht operierten Katzen entnommen wurden. Auch an den chronisch denervierten Vorhöfen konnte die erregende Wirkung von Ach und Ni durch C_6 unterdrückt werden.

Chronische Degeneration der sympathischen Nerven des Kaninchenohres wurde durch aseptische Entfernung des Ganglion cervicale superius und des Ganglion stellatum einer Seite erzielt. Zur chronischen Ausschaltung der sensorischen Innervation wurden der große und der kleine Ohrnerv durchtrennt. 2—3 Wochen nach dieser Operation wurden isolierte Ohrpräparate hergestellt, an denen Ach und Ni qualitativ gleich wirkten, wie an den nicht chronisch denervierten Ohren. C_6 unterdrückte auch bei diesen Präparaten die vasokonstriktorische Wirkung von Ach und Ni.

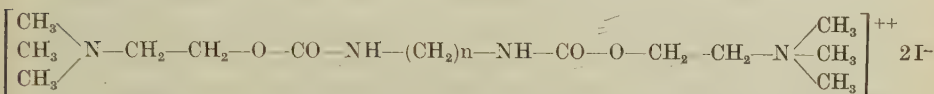
Die mitgeteilten Befunde an chronisch denervierten Organen zeigen, daß die erregende Wirkung von Ni und Ach auf Herzvorhof und Gefäßpräparat nicht durch Axonreflexe in den entsprechenden postganglionären sympathischen Fasern zustande kommt. Hingegen wird die Annahme unterstützt, wonach Ganglienzellen bzw. Ganglien mit adrenergen Neuronen oder chromaffine Strukturen im Säugetierherz und entlang der Gefäße des Kaninchenohres vorkommen und an den beschriebenen Wirkungen von Ni und Ach beteiligt sind.

KRAUPP, KLUPP, STORMANN und STUMPF (Wien): Cholinesterasehemmwirkung und neuromuskuläre Wirksamkeit von Bischolin-Polymethyldicarbaminsäureestern.

In der Reihe der Dicarbonsäurebischolinester und der Polymethylenbistrimethylammoniumverbindungen erreicht die neuromuskuläre lähmende Wirksamkeit der Verbindungen ein Maximum, wenn beide quaternären Stickstoffgruppen durch 10—12 kettenförmig angeordnete

Zwischenatome getrennt sind (Succinylcholin, Decamethonium). Zum Unterschiede davon sind die Dicarbaminsäurebischolinester (DCBCE) mit 10—12 Zwischenatomen ohne nennenswerte neuromuskulär lähmende Wirksamkeit (BOVET¹ und HERRING² u. MARSH).

Wir haben nun in der vorliegenden Arbeit auch die höheren Glieder der homologen Reihe der DCBCE im Vergleich mit den beiden von BOVET und HERRING bereits geprüften Anfangsgliedern einer pharmakologischen Untersuchung unterzogen. Die allgemeine chemische Formel der Verbindungen lautet:



Es wurden die Verbindungen mit $n = 0, 2, 4, 6, 8, 10$ untersucht. (Die Substanzen wurden von den Österreichischen Stickstoffwerken synthetisiert und uns zur Untersuchung übergeben.)

Ergebnisse.

1. Die Verbindungen mit 4—10 Zwischengliedern ($n = 4—10$) zeigten sowohl am Rattenzwerchfellpräparat nach BÜLBRING, wie auch am Nerv-Muskelpräparat der Katze eine starke neuromuskulär lähmende Wirksamkeit. Das Maximum dieser Wirkung lag bei der Verbindung mit $n = 6$ und betrug an der narkotisierten Katze ungefähr das Dreifache der Wirksamkeit von Decamethonium. Übereinstimmend damit verursachten die genannten Substanzen auch am nicht narkotisierten Hund eine Muskellähmung, wobei ebenfalls der Hexamethylenverbindung die höchste Wirksamkeit zukam. Zur Erzielung einer Lähmung von gleicher Dauer genügte bei dieser Substanz ein Drittel der bei Decamethonium benötigten Dosis.

2. Die pharmakologisch wirksamen Verbindungen ($n = 4—10$) riefen am Froschrectus eine Kontraktur hervor. Die wirksamste Verbindung ist auch hier wieder das Hexamethylderivat, das etwa $\frac{1}{2}$ der Wirksamkeit von Acetylcholin zeigte. Am Nerv-Muskelpräparat der Taube verursachten diese Verbindungen eine lang dauernde Kontraktur der Beinmuskulatur. Sie können somit hinsichtlich ihres Lähmungstypus der Gruppe der decamethoniumartigen Stoffe zugeordnet werden.

3. Die Atmung wurde an der narkotisierten Katze erst bei Verdoppelung der eben neuromuskulär lähmenden Dosis weitgehend eingeschränkt.

¹ BOVET, D., N. F. BOVET, S. GUARINA, V. G. LONGO, R. FUSCO: Arch. internat. Pharmacodynamie 88, 1 (1951).

² HERRING, D. A., and D. F. MARSH: J. of Pharmacol. 103, 346 (1951).

4. Geringe ganglionär erregende Wirkungen auf Blutdruck und Nickhaut traten erst in Dosen auf, die das 20—30fache der neuromuskulären wirksamen Grenzdosis betrugen.

5. Am Froschherzpräparat nach STRAUB übten die höheren Homologen der DCBCE eine antagonistische Wirkung gegenüber Acetylcholin aus.

6. Die Aktivität der Serum- wie auch der Nucleus caudatus Cholinesterase wurde von allen untersuchten DCBCE gehemmt, wobei diese Hemmwirkung mit steigender Anzahl der Zwischenglieder zunahm und mit der Verbindung ($n = 8$) ihr Maximum erreichte. Bei dieser Substanz war die Wirksamkeit auf die Serumcholinesterase um eine Zehnerpotenz größer, auf die Esterase des Nucleus caudatus um eine Zehnerpotenz geringer als bei Eserin. Die Hemmwirkung gehört dem reversiblen Typus an. Sämtliche DCBCE wurden durch beide Esterasetypen nicht gespalten.

In der Reihe der DCBCE liegt das Maximum der neuromuskulär lähmenden Wirkung bei einer Anzahl von 16—18 Zwischenatomen ($n = 6—8$) gegenüber 10—12 Zwischenatomen bei den Dicarbonsäurebischolinestern bzw. Polymethylenbistrimethylammoniumverbindungen. Auch die Hemmwirkung der DCBCE gegenüber den beiden Cholinesterasetypen erreicht bei 18 Zwischenatomen ihr Maximum. Dieses gleichartige Verhalten der Abhängigkeit der neuromuskulären Wirksamkeit bzw. der Cholinesterasehemmwirkung von der chemischen Struktur läßt auf eine weitgehende strukturelle Ähnlichkeit der Fermentoberfläche mit dem neuromuskulären Receptororgan schließen. Die Tatsache, daß die DCBCE durch beide Cholinesterasen nicht angegriffen bzw. gespalten werden, kann mit ihrer langen Wirkungsdauer im Gegensatz zur kurzen Wirkungsdauer der durch die Serumesterase spaltbaren Dicarbonsäurebischolinester in Beziehung gebracht werden. Interessanterweise konnten wir bei unseren Befunden keinerlei Anhaltspunkte für eine Cholinesterasehemmwirkung der DCBCE im lebenden Organismus erheben. So fehlte die für Cholinesterasehemmkörper typische Potenzierung der Acetylcholinwirkung am Froschrectus. Auch am Blutdruck konnte keine Steigerung der Acetylcholinwirkung beobachtet werden. Übereinstimmend damit fehlte den DCBCE jede Wirkung auf die Irismuskulatur. Möglicherweise gibt die vor allem am Froschherzen beobachtete antagonistische Wirkung der DCBCE gegenüber Acetylcholin eine Erklärung für das Fehlen jeglicher für Cholinesterasehemmwirkung typischer pharmakologischer Eigenschaften.

Der große Abstand zwischen neuromuskulär — und nicotinartig erregender Dosis sowie das Fehlen aller muscarinartigen Nebenwirkungen der DCBCE lassen im Verein mit der langen Wirkungsdauer dieser Substanzen ihre klinische Anwendung als langwirkende Muskelrelaxantien berechtigt erscheinen.

H. KLUPP, W. KOBINGER, O. KRAUPP (Wien): Veränderungen des Kalium- und Milchsäurespiegels im Serum nach Verabreichung neuromuskulär lähmender Substanzen.

Die Untersuchungen befaßten sich mit der Frage, ob die depolarisierende Wirkung einiger Muskelrelaxantien, wie z. B. Succinylbischolin, Decamethonium und der Bischolinester der Octamethylendicarbaminsäure an Ganztieren als Veränderungen des Blutkaliumspiegels in Erscheinung treten. Die Versuche wurden an nicht narkotisierten Hunden und an Hunden in Chloralosenarkose durchgeführt, wobei die Blutkaliumkonzentration in laufend entnommenen Blutproben flammenphotometrisch bestimmt wurde. Nach Injektion der genannten muskellähmenden Stoffe kam es sowohl an den wachen Tieren als auch an den künstlich beatmeten, narkotisierten Hunden zu einem deutlichen Anstieg der Kaliumkonzentration im Plasma. Der Verlauf der Änderung des Blutkaliums weist zwei Gipfel auf: der erste Anstieg erfolgt unmittelbar im Anschluß an die Injektion, der zweite tritt nach einem vorübergehenden Rückgang ein, zeigt einen flacheren Verlauf, übertrifft aber in Ausmaß und Dauer den ersten Anstieg. Die Steigerung der Kaliumkonzentration schwindet etwa gleichlaufend mit dem Abklingen der durch die Versuchssubstanzen bedingten Muskellähmung. Im Gegensatz zu den genannten depolarisierenden Stoffen verursacht d-Tubocurarin nur in sehr hohen Dosen eine geringe Erhöhung des Blutkaliums; es wird jedoch im Anschluß an die Curareinjektion der Anstieg des Kalium nach Stoffen wie Succinylcholin völlig unterdrückt. Diese, der Depolarisationsverhinderung entsprechende Wirkung von Curare überdauert die muskellähmenden Curarewirkungen bei weitem. Es bestehen somit Parallelen zu den an Tauben unter Curare beobachteten Verhinderung der kontrakturauslösenden Wirkung von Adipinbischolin: Auch diese Wirkung von Curare dauert wesentlich länger an als seine lähmende Wirkung auf die indirekte Muskeleerregbarkeit.

Zur Feststellung der absoluten Mengen an Kalium, die unter Succinylbischolin aus dem Muskel austreten, wurden die Hinterextremitäten von Katzen isoliert mit einem Blut-Tyrodegemisch durchströmt und sowohl die Durchströmungsmenge, als auch ihr Gehalt an Kalium bestimmt. Auch in dieser Versuchsanordnung zeigte sich eine Zunahme der Kaliumkonzentrationen im ausströmenden Blut, wenn Succinylbischolin der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt wurde. Die dabei nach einer Dosis von 100 μ g Succinylbischolin abgegebenen Kaliummengen betragen etwa 0,384 mM, die tatsächlich aus der Muskulatur ausgetretenen Kaliummengen müssen noch höher liegen. Bei Steigerung der Durchströmung nehmen die ausgeschwemmten Kaliummengen beträchtlich zu, anscheinend weil dadurch eine Anhäufung von Kalium in der Interzellularflüssigkeit verringert wird.

Zum Vergleich wurde auch Acetylcholin der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt. Von dieser Substanz ist bereits bekannt, daß sie aus Muskeln Kalium freisetzt. Die von uns unter diesen Versuchsbedingungen gefundenen Kaliummengen von 0,043 mM entsprechen den von VERSZAR nachgewiesenen. Allerdings waren in unseren Versuchen bedeutend höhere Acetylcholinmengen zur Erzielung eines nachweisbaren Effektes notwendig. Es läßt sich errechnen, daß durch 1 Molekül Succinylcholin mindestens 1500 Kaliumionen freigesetzt werden, während 1 Molekül Acetylcholin nur 5—10 Kaliumatome freisetzt.

Da in der Literatur Berichte vorliegen, die auf eine enge Verknüpfung der Serumkaliumkonzentration mit dem Glykogenstoffwechsel hinweisen, untersuchten wir, ob die durch Muskelrelaxantien bedingte Kaliumzunahme im Plasma mit einer Veränderung der Milchsäurekonzentration einhergeht. Eine Herabsetzung des Serum-Milchsäure-Spiegels durch Curare ist bereits beschrieben worden und konnte auch von uns festgestellt werden. Derselbe Effekt wurde aber auch durch die untersuchten depolarisierenden Stoffe verursacht. Da die letztgenannten Verbindungen gleichzeitig das Plasmakalium beträchtlich erhöhen, während ein solcher Effekt unter Curare praktisch nicht nachweisbar ist, kann eine direkte Beziehung zwischen Abnahme der Milchsäure und Blutkaliumveränderungen unter dem Einfluß von neuromuskulär lähmenden Stoffen nicht angenommen werden.

Diskussion. BROCK: Für eine vergleichend quantitative Beurteilung der Kaliumausscheidung darf der Zeitfaktor nicht außer Acht gelassen werden. Unter diesem Gesichtspunkt wäre interessant zu erfahren, wie die Kaliumausscheidung sich verhält, wenn der Acetylcholinabbau durch Hemmung der Cholinesterase (Eserin) gehemmt und so eine verlängerte Wirkungsdauer von Acetylcholin erzielt wird.

FLECKENSTEIN: Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß der erste Gipfel des Kaliumanstiegs im Serum mit der primär erregenden Wirkung der depolarisierenden, neuromuskulär lähmenden „Endplatten-Katelektrotonica“ zusammenhängt.

LÜLLMANN: Durch fortlaufende Bestimmung der „Kopf-Fall-Dosis“ am Kaninchen kann ebenfalls gezeigt werden, daß d-Tubocurarin eine längere Wirkungsdauer besitzt, als es aus der Dauer der neuromuskulären Lähmung zu entnehmen ist.

G. OSTERLOH (Leipzig): Die synergistische Wirkung von Succinylcholin und Cholin.

Bei Infusionsversuchen an der narkotisierten Katze (Chloralose-Urethan), die sich mit der Entgiftung von Succinylcholin (SCH) befaßten, war aufgefallen, daß nach Cholin-Gaben der Atemstillstand wesentlich früher auftrat.

So kam es z. B. bei einer Dauerinfusion von 0,0375 mg/kg/min SCH allein nach 15 min 30 sec zum Atemstillstand. Wurde dagegen *vor* Beginn

der SCH-Infusion Cholin in einer Dosierung von 1 mg/kg gegeben, so erfolgte der Atemstillstand bereits nach 3 min 15 sec. Die gleichzeitig registrierten Gastrocnemius-Kontraktionen (Ischiadicus-Reizung) wurden bei SCH-Dauerinfusion allein in 13 min 30 sec, nach Cholin-Vorbehandlung bereits in 2 min 30 sec völlig gehemmt.

In weiteren Versuchen an Katzen kam Cholin in einer Dosierung von 2—4 mg/kg während der SCH-Dauerinfusion von 0,015—0,0375 mg pro kg/min zur Anwendung. Registriert wurden ebenfalls die Atembewegungen und die Gastrocnemius-Kontraktionen bei indirekter Reizung. Nachdem der Gastrocnemius unter der SCH-Dauerinfusion nicht mehr reagierte, die Atemexkursionen aber noch keine wesentliche Abnahme erkennen ließen, führte die intravenöse Injektion von Cholin bei fortlaufender SCH-Infusion stets zu einem deutlichen Rückgang bzw. zu einem gänzlichen Sistieren der Atembewegungen, so daß künstliche Atmung erforderlich war.

In anderen Versuchen an Katzen (Chloralose-Urethan) und Hunden (Pernocton) wurden nur die Gastrocnemius-Kontraktionen registriert. Auch hier ergab sich eine Verstärkung der SCH-Wirkung durch Cholin. Während Cholin allein bei intravenöser Injektion von 1—4 mg/kg keine oder nur eine geringe Hemmung der Muskelkontraktionen verursachte, bewirkte Cholin in gleicher Dosierung im Verlaufe der SCH-Dauerinfusion von 0,008—0,015 mg/kg/min stets eine sofortige und deutliche Hemmung der Kontraktionen.

Da SCH nach Ansicht zahlreicher Autoren sowohl durch die Plasma-Cholinesterase als auch durch die Acetylcholin-Esterase eine rasche Spaltung in Cholin und Bernsteinsäure erfährt, erscheint es denkbar, daß der Synergismus von SCH und Cholin in Analogie zur Beeinflußbarkeit der Acetylcholin-Spaltung durch Cholin auf einer kompetitiven Hemmung der Cholinesterasen beruht.

Es spricht jedoch vieles dafür, daß sich die neuromuskulär blockierenden Wirkungen von SCH und Cholin, welche nach HUTTER¹ wie bei SCH als Depolarisierung an der motorischen Endplatte anzusehen sind, gegenseitig verstärken. Auf einen derartigen Wirkungsmechanismus weisen auch Ergebnisse hin, welche wir an der dekapitierten Katze bei sonst gleicher Versuchsanordnung mit Cholin und *Dekamethonium* bzw. *d-Tubocurarin* erhielten, da beide im Organismus nicht fermentativ abgebaut werden:

Während der Dauerinfusion mit Dekamethonium in einer Dosierung von 0,75—1,13 γ /kg/min, die erst in 85—100 min eine Abnahme der Gastrocnemius-Kontraktionen um etwa 70% herbeiführte, verursachten Cholin-Injektionen von 4 mg/kg eine weitere Hemmung der Muskel-

¹ HUTTER: J. of Physiol. **117**, 241 (1952).

kontraktionen bei indirekter Reizung bis zu 90% der Ausgangshöhe. Die zum Vergleich allein gegebene Cholin-Dosis hatte auch hier lediglich eine Hemmung von maximal 15% zur Folge.

Im Anfang der Dauerinfusion mit 0,0015 mg/kg/min d-Tubocurarin — die geringen infundierten d-Tubocurarin-Mengen führten noch nicht zu einer Hemmung der Gastrocnemius-Kontraktionen — blieben Cholin-Injektionen, die allein eine geringe Abnahme der Kontraktionshöhe verursachten, ohne Wirkung. Im weiteren Verlauf der Dauerinfusion zeigte sich mit zunehmender Curarisierung nach Cholin eine deutliche Verstärkung der Muskelkontraktionen, der d-Tubocurarin-Block wurde also durchbrochen. — Diese Befunde mit d-Tubocurarin und Cholin bestätigten die Ergebnisse von HUTTER¹.

Diskussion. LÜLLMANN: Aus unseren in vitro und in vivo Versuchen geht hervor, daß die kurze Wirkungsdauer von Succinylcholin nicht durch die Fermentation, sondern durch die Spontanhydrolyse verursacht wird.

VEIGEL (Brackwede): Zur pharmakologischen Charakterisierung von Muskelrelaxantien.

Zur Differenzierung von Substanzen der Curare- und Dekamethonium-Gruppe eignet sich nach BUTTLE und ZAIMIS sowie nach GINZEL, KLUPP und WERNER das Gastrocnemiuspräparat der Taube. Nach Gabe von d-Tubocurarin und wirkungsmäßig verwandten Verbindungen sind bei elektrischer Reizung des zugehörigen Nerven die üblichen Lähmungserscheinungen zu beobachten. Nach Gabe von Dekamethonium, Succinylcholin und verwandten Substanzen dagegen kommt es unter anderem zu einer charakteristischen initialen Kontraktur des Taubengastrocnemius. An der Säugetiermuskulatur war eine derartige Unterscheidung bislang nicht ohne weiteres möglich, da beide Gruppen hier zu einem völlig gleichlaufenden Abfall der indirekten Erregbarkeit führen. Erst nach „chronischer Denervierung“ war hier das gleiche Verhalten wie am Taubenmuskel nachweisbar.

Zur Charakterisierung der verschiedenen Wirkkomponenten eines Muskelrelaxans hat sich uns ein Meerschweinchenpräparat bewährt, bei dem gleichzeitig die Tätigkeit von Zwerchfell (indirekte Reizung) und Gastrocnemius (direkte und indirekte Reizung) sowie die Bronchialweite und der Blutdruck zur Darstellung gebracht wird. An diesem Ganztierpräparat, das gegenüber den üblichen einfachen Wadenmuskelpräparaten erheblich tiefere Einblicke in den Wirkungscharakter einer Substanz bietet, ist auch bei intakter Innervierung eine Differenzierung von Curare- und Dekamethoniumpräparaten möglich, da das Meerschweinchenzwerchfell ganz analog dem Taubengastrocnemius auf Sub-

¹ HUTTER: J. of Physiol. 117, 241 (1952).

stanzen der Dekamethoniumgruppe ebenfalls mit einer initialen Kontraktur reagiert. Allerdings war dies interessanterweise nur der Fall, wenn die Narkose mit einem Barbital (Medinal, Numal, Pentothal, Evipan) durchgeführt wurde. Verabfolgt man dagegen zur Narkose ein Nichtbarbital (Urethan, Avertin, Paraldehyd, Amylenhydrat, Choreton), so reagiert das Meerschweinchenzwerchfell auch auf Dekamethonium mit reiner Lähmung. Am Meerschweinchengastrocnemius waren stets nur Lähmungsvorgänge nachweisbar. Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Tierarten (Katze, Meerschweinchen, Ratte, Goldhamster und Maus) ergaben, daß eine derartige Differenzierung außer am Meerschweinchen nur an der Maus möglich war.

Diskussion. KLUPP (Wien): Es wird auf die Wirkung des Bis-Triphenylphosphoniumanalogs von C_{10} hingewiesen, das die Wirkung kontrakturauslösender Stoffe wie Dekamethonium vorübergehend in curareartige umwandelt. Die Möglichkeit des Vorhandenseins von curareartigen Wirkungen in Kontrakturstoffen, die durch verschiedene Stoffe in den Vordergrund des Wirkungsbildes gebracht werden, wird diskutiert.

Schlußwort. VEIGEL: Zur Bemerkung von KLUPP wird an Hand einiger Abbildungen gezeigt, daß unter den gegebenen Bedingungen (Barbituratnarkose) die Kontraktur im allgemeinen bereits voll ausgebildet ist bei Succinylbischolidosen, die noch keinerlei sekundäre Lähmungserscheinungen erkennen lassen. Erst höhere Dosen führen zum vollen Wirkungsbild. Mit der Klärung der hier aufgezeigten Phänomene sind wir z. Zt. beschäftigt.

GÜNTER GRUPP und KLAUS GOERTTLER (Freiburg i. Br.): Größenänderung glatter Muskelfasern bei verschiedenen Funktionszuständen.

Zur Beurteilung des Zustandes der glatten Muskelfasern selbst auf darmlähmende oder erregende Stoffe haben wir das statistische Querschnittsbild der Muskelfasern herangezogen.

Als lähmende Stoffe wurden Adrenalin, Chloralhydrat und das Antihistaminicum Luvistin (Pyrrolidyl-benzyl-phenyl-äthylamin), von den erregenden Stoffen Acetylcholin und Bariumchlorid und zur Fixation Formalin verwendet.

Formalin kontrahiert den Darm direkt vor der Fixation. Trotzdem sind nicht alle Fasern kontrahiert. Es wechseln in aufeinanderfolgenden Darmabschnitten die mittleren Durchmesser der glatten Muskelfasern in statistisch gesicherter geordneter Reihenfolge. Es entsteht das Bild einer Welle, die möglicherweise mit der Kontraktionswelle der Längsmuskulatur identisch ist.

Von den lähmenden Stoffen fixiert das Chloralhydrat ebenfalls, jedoch langsamer als Formalin. Es tritt keine volle Erschlaffung aller Muskelfasern ein.

Die Adrenalinlähmung des Darms wurde durch Formalin ohne weiteres durchbrochen. Auch hier tritt die beim Formalin beschriebene

wellenförmige Änderung der Mittelwerte auf. Demnach ist die Adrenalinwirkung auf die glatte Muskelfasern des Darmes keine direkte Wirkung. Die natürlichen Kontraktionswellen laufen unter der Adrenalinwirkung weiter, sie werden jedoch nicht sichtbar.

Außerdem können mit dieser Methodik unerregbare Fasern sichtbar gemacht werden, die wegen ihrer geordneten Aufeinanderfolge echten Refraktärphasen entsprechen müssen.

Luvistin lähmt die glatten Muskelfasern vollkommen, es kann durch Formalin keine Kontraktion mehr erzielt werden; das gleiche gilt umgekehrt für die Bariumchlorid-Kontraktion.

Acetylcholin kontrahiert nicht alle Fasern. Kontrahierte und nicht kontrahierte Anteile folgen einander gesetzmäßig. Es verhält sich also grundsätzlich wie Adrenalin.

Diskussion. PETRY (Freiburg): Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß die vorliegenden Befunde für die morphologische Forschung von außerordentlicher Bedeutung sind. Seitdem sich die Morphologen mit der Analyse funktioneller Strukturen befassen, besteht das Problem, ob die in einem bestimmten Funktionszustand fixierten Objekte die Verhältnisse in vivo wirklich zeigen.

Dies gilt vor allem für die Untersuchungen an glattemuskuligen Hohlorganen wie Darm, Ureter, Eileiter usw. und vor allem für die Erforschung der funktionellen Struktur der Blutgefäße. Wir haben es hier mit sehr kompliziert aufgebauten Systemen glatter Muskulatur zu tun. Funktionelle Strukturen sind nun am besten in den extremen Funktionszuständen zu analysieren, einmal bei vollkommener Kontraktion und andererseits bei einer totalen Erschlaffung. Nach den vorgetragenen Untersuchungen müssen wir annehmen, daß die Anwendung einiger Pharmaka zu Erschlaffung der glatten Muskulatur (z. B. Chloralhydrat) utopisch waren. Auch die übliche Fixierung gespannter oder gedehnter Objekte mit Formalin ist demnach unvollkommen. Die sehr aufschlußreichen Ergebnisse von GRUPP und GOERTTLER geben uns nunmehr die Möglichkeit einer eindeutigen Fixierung glatter Muskulatur in total erschlafftem Zustand.

H. LÜLLMANN (Mainz): Beitrag zur Frage der Spontanrhythmik nervenfreier Muskulatur.

Es wird über Versuche an isolierten Amnien von Hühnern berichtet. Bei diesem Präparat handelt es sich um ein nervenfreies Organ, das koordinierte Spontanbewegungen ausführt. — Die erregende Wirkung von Acetylcholin (ACh) war von d-Tubocurarin, Dekamethonium oder Atropin nicht hemmbar. Auch die ganglienblockierenden Substanzen Pentamethonium, Hexamethonium und Scopolamin-n-butylbromid zeigten weder eine Eigenwirkung noch hoben sie den ACh-Effekt auf. Bariumionen erregten das Organ stärker als ACh oder Nicotin. Alle Pharmaka, die excitatorische Eigenschaften aufwiesen, ließen sich durch Chinin oder Papaverin hemmen. Die inhibitorische Aktion dieser beiden Verbindungen war reversibel. — Synchron zu den Kontraktionen des Amnion konnten regelmäßige Aktionspotentiale abgeleitet werden, die zeitlich

vor oder in den Beginn der Kontraktionen fielen. — Untersuchung des Amniongewebes auf den Gehalt an Cholinesterase ergab mit Hilfe einer Mikromethode die Anwesenheit von echter Cholinesterase, da ACh und Acetyl- β -methylecholin hydrolysiert, Benzoylcholin nicht gespalten wurde.

G. HOSSLI und M. MÜLLER (Zürich): Eine automatisch regulierende Infusionsapparatur.

Mit 3 Textabbildungen.

Nach den Anregungen der Chirurgischen Universitätsklinik Zürich ist im Institut für Fernmeldetechnik der Eidg. Technischen Hochschule mit großzügiger Unterstützung durch die „Fritz Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz“ eine automatisch regulierende Infusionsapparatur entwickelt worden. Die nicht seltenen Schwierigkeiten mit der normalen Infusionsapparatur im klinischen Betrieb rechtfertigten den Bau dieses Gerätes, da ja gerade bei schockierenden und schweren Eingriffen die Patienten oft vom zuverlässigen Funktionieren der Infusion abhängig sind. Das Pflichtenheft schrieb vor, daß eine innerhalb weiter Grenzen variable vorwählbare Tropfenzahl mit Lösungen von wechselnder Viscosität und gegen wechselnden Abflußwiderstand, wie etwa nach Veränderung der Infusionshöhe oder des Venendruckes, konstant gehalten werden müsse. Verlangt ist ferner die Fernsteuerung von einem kleinen Kommandokästchen aus, welches in der Nähe des Narkotiseurs am Operationstisch befestigt wird (Abb. 1). Sicherheitseinrichtungen sollen das unrichtige Funktionieren der Apparatur, wie Nichteinhalten der Tropfenzahl und Absinken des Spiegels im Tropfglas oder Aufhören des Zuflusses, dem Narkotiseur melden. Die Warneinrichtung kann auch an die Schwestern-Rufanlage in den Krankenzimmern angeschlossen werden. Das Gerät kann Verwendung finden bei schweren chirurgischen Eingriffen, bei der künstlichen Blutdrucksenkung und künstlichen Hypothermie, auf der Frischoperiertenstation zur Regulierung und Überwachung der Infusion über längere Zeit, bei gewissen Patienten der inneren Klinik und für Versuche aller Art in der Physiologie, Pharmakologie und Pharmazeutik, wo oft die konstante und gleichmäßige Zufuhr eines Pharmakons erwünscht ist. Zugleich ist die Reproduzierbarkeit gewährleistet und die Möglichkeit der Registrierung gegeben. Die Steuerung bestimmter Körperfunktionen, wie Kreislauf, Atmung oder der Narkoseablauf, könnte mit Hilfe der automatisch regulierenden Infusionsapparatur erfolgen. Die Einstellung der Tropfenzahl würde von einem Programmautomaten oder Integrator übernommen, der seinerseits von Meßeinrichtungen für Blutdruck, Puls, Atmung, Körpertemperatur, Stoffwechsel usw. beeinflusst wird. Die automatische Regulierung würde rascher und genauer

erfolgen als es allein mit menschlicher Kontrolle möglich wäre. Im Hinblick auf den späteren Ausbau für diesen Zweck ist die Kombination mit einer Dosiereinrichtung für verschiedene lösliche Medikamente vorgesehen.

Abb. 1 zeigt die Anordnung der einzelnen Geräte, Abb. 2 das Blockschema der zur Erfüllung der im Pflichtenheft aufgestellten Forderungen

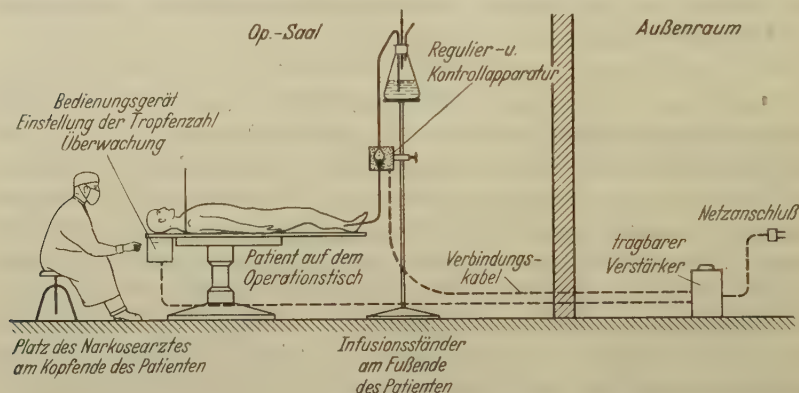


Abb. 1. Anordnung der einzelnen Geräte des automatischen Infusionsreglers.

entwickelten Anlage. Dieses Schema stellt einen geschlossenen Regelkreis dar und gilt ganz allgemein für jede selbsttätige Regelung. Es handelt sich stets darum, den Istwert der geregelten Größe mit einem Sollwert zu vergleichen. In einem Vergleichsglied F wird die Differenz — der Fehler — ermittelt. Das Fehlersignal wird verstärkt und dient

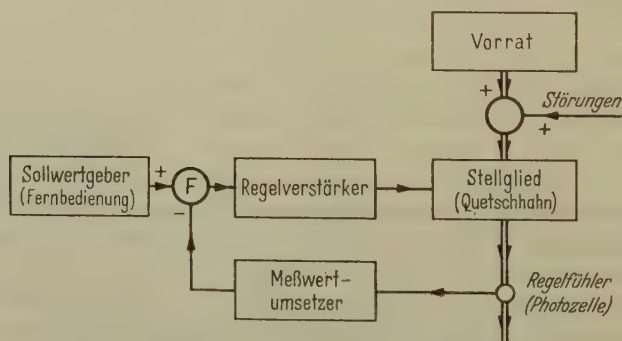


Abb. 2. Blockschema des automatischen Infusionsreglers.

zur Betätigung des Stellgliedes. Dieses beeinflusst die zu regelnde Größe so lange im richtigen Sinn, bis der Fehler Null wird und die Übereinstimmung zwischen Soll- und Istwert wieder hergestellt wird. Im vorliegenden Fall hat das Stellglied die Form eines Quetschhahnes, der durch einen kleinen Elektromotor angetrieben wird. — Jeder im Tropf-

gefäß fallende Tropfen löst in einer Photozelle einen Impuls aus, der nach entsprechender Verstärkung zur Steuerung des Regelvorganges dient. Zudem können die Tropfen in einem Zählwerk registriert werden.

Ist die Infusionsflüssigkeit aufgebraucht oder eine Verstopfung eingetreten, so daß die Infusion zum Stehen kommt, so wird nach einigen Sekunden ein Alarm ausgelöst. Desgleichen, wenn der Quetschhahn im

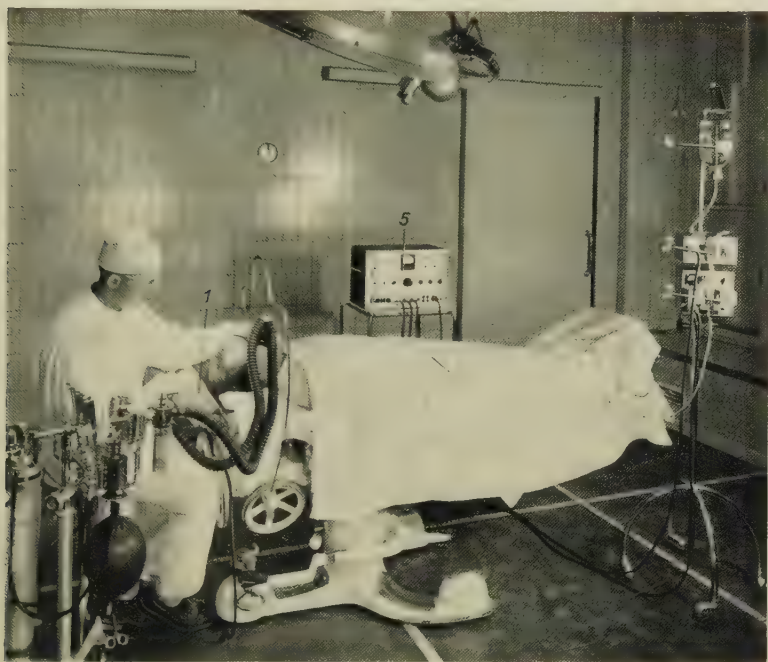


Abb. 3. Aufstellung der Anlage im Operationssaal.

1. Kommandokästchen.
2. Tropfgerät mit Fotozelle und Überwachung des Flüssigkeitsspiegels im Tropfrohr.
3. Stellglied (Quetschhahn).
4. Flasche mit Infusionsflüssigkeit.
5. Verstärkerteil.

Laufe des Regelvorganges eine der Endlagen („ganz auf“ oder „ganz zu“) erreicht und daher eine weitere Änderung der Tropfgeschwindigkeit nicht mehr ausgeregelt werden kann. Der Flüssigkeitsstand im Tropfgefäß wird überwacht, indem die Flüssigkeit im Tropfgefäß das Dielektrikum eines Kondensators bildet. Eine Änderung des Flüssigkeitsspiegels hat eine Kapazitätsänderung zur Folge und löst ebenfalls einen Alarm aus. Die Abb. 3 zeigt die konstruktive Ausführung der einzelnen Geräte. Eine etwas ausführlichere Beschreibung des Apparates findet sich in der Technik-Beilage der Neuen Züricher Zeitung Nr. 2261 (88), Mittagsausgabe, vom 30. September 1953.

A. FLECKENSTEIN (Heidelberg): Zum Mechanismus der Cocain-Potenzierung sympathomimetischer Stoffe aus der Brenzkatechinreihe.

Chronisch denervierte Nickhäute (Exstirpation des oberen Cervicalganglions) und akut cocainisierte Nickhäute (etwa 5—10 mg/kg Cocain intravenös) von Katzen zeigen eine weitgehende Übereinstimmung in ihrem Verhalten gegenüber sympathomimetischen Stoffen: Die Brenzkatechin-Derivate (Adrenalin, Noradrenalin, Corbasil, Dioxyphehdrin, Dioxyphehnyläthylamin, Dioxyphehnylmorpholin) wirken z. B. an cocainisierten Nickhäuten jeweils in ganz ähnlichem Umfang verstärkt wie an denervierten Nickhäuten. Noradrenalin, Epinin und Corbasil erfahren dabei die kräftigste Potenzierung. Umgekehrt verlieren andere Sympathomimetica, z. B. Tyramin, Phenyläthylamin, Benzedrin, Pervitin, Veritol, Cyclohexylmethylaminopropan an der denervierten oder cocainisierten Nickhaut den größten Teil ihres Effektes. Andere Sympathomimetica, z. B. Ephedrin, werden durch Denervierung — ähnlich wie durch Cocainisierung — nicht oder nur im Sinne einer mäßigen Abschwächung beeinflußt. Diese parallelen Verhaltensweisen wurden an 70 denervierten und 70 cocainisierten Katzen studiert. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß sich die denervierten und die cocainisierten Nickhäute letzten Endes in einem identischen Zustand befinden. Die Annahme liegt nahe, daß Cocain die Aktivität der sympathischen Nervenendigungen bis zu einem — der operativen Denervierung ähnlichen — Grade reduzieren kann und dadurch auch die hauptsächlichsten Folgezustände einer operativen Denervierung akut zu imitieren vermag. Auch der Wirkungsverlust von Cocain nach operativer Denervierung der Pupille bzw. Nickhaut wird so gut verständlich: Eine zusätzliche „pharmakologische Denervierung“ kann nicht mehr stattfinden, wenn die Sympathicusfasern schon vorher infolge der operativen Denervierung degeneriert sind.

Literatur.

FLECKENSTEIN, A., u. H. BASS: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **220**, 143 (1953). — FLECKENSTEIN, A., u. J. H. BURN: Brit. J. Pharmacol. **8**, 69 (1953).

Diskussion. MALORNY: Hinweis auf frühere Versuche mit ORZECZOWSKI, wonach die Adrenalinensibilisierung nach Cocain, Ephedrinabkömmlingen, Aminosäuren u. a. am Blutdruck der decapitierten Katze auf eine Empfindlichkeitssteigerung der sympathischen Rezeptoren oder Erfolgsorgane zurückgeführt wurde. Die These von der Hemmung der Aminoxydase befriedigte nicht, da die stärkste Sensibilisierung gerade nach den kleinsten Dosen dieser Stoffe zu beobachten war. Nach hohen Dosen kam es zu einer Abschwächung der Adrenalinwirkung durch Blockade der sympathischen Rezeptoren. Es wird angefragt, ob die geschilderten Effekte an der Nickhaut durch hohe Cocaindosen wieder beseitigt werden können.

Schlußwort. FLECKENSTEIN: Nach sehr hohen, an der Grenze der Verträglichkeit liegenden Cocain-Dosen (etwa 10 mg/kg intravenös) können die enorm gesteigerten — durch intravenöse Gaben von Adrenalin und Noradrenalin erzeugten

-- Nickhautkontraktionen wieder etwas schwächer werden. Es liegt zweifellos nahe, als Ursache hierfür eine direkte Hemmung der glatten Muskelfasern in der Nickhaut durch Cocain anzunehmen (FLECKENSTEIN¹).

R. DEININGER (München): Über den unterschiedlichen Einfluß der N-methyl- und Nor-Barbitursäuren auf die Pupillenweite und über die Beeinflussung der narkotischen Wirkung durch Methylendonatoren.

Der Einfluß einiger Barbitursäuren auf die sympathektomierte Pupille der Maus nach Entfernung des Ganglion cervicale cranialis wird gezeigt. Die N-methyl-Verbindungen (Evipan, Eunarkon, Narkonumal, Prominal und N-methyl-Veronal) erweitern durchwegs die denervierte Pupille, während die Nor-Barbitursäuren (Nor-Evipan, Noctal, Luminal, Numal, Veronal, Medomin und Pernocton) die denervierte Pupille verengern.

Die lokale Cocainwirkung (Mydriasis) wird von den N-Methyl-Barbitursäuren nicht beeinflusst, während die Nor-Barbitursäuren die Cocainwirkung hemmen.

Arbeiten von BUSH und BUTLER haben gezeigt, daß im Organismus eine Demethylierung der N-Methylbarbitursäuren stattfindet. Die bei der Demethylierung der N-methylierten Barbitursäuren freiwerdenden Methylgruppen können durch Übergang auf andere wirksame Stoffe deren pharmakologische Wirkung abwandeln und somit erkennbar werden. Die N-Methylbarbitursäuren verstärken eine nachfolgende Nor-Adrenalinwirkung an der denervierten Pupille durch Überführung des Methyls auf das Nor-Adrenalin, denn diese Verstärkung wird durch Tellur als Methylfänger verhindert. Diese Ergebnisse erhalten wir nach Evipan, N-Methyl-Veronal, Prominal, Narkonumal und Eunarkon.

In weiteren Versuchen kann gezeigt werden, daß auch eine Aufmethylierung der Nor-Barbitursäuren im Organismus möglich ist. Die miotische Wirkung des Nor-Evipans wird durch Stoffe wie Acetylcholin, Cholin in eine Mydriasis umgewandelt. Diese mydriatische Wirkung, wie sie von Evipan und Eunarkon schon länger bekannt ist, ist somit ein Effekt der in vivo gebildeten N-Methylbarbitursäure. Auch sie wird durch Tellur verhindert. Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß Umlagerungen am Stickstoff der Barbitursäuren möglich sind. Es sind hier Versuche von SLAUGHTER, FROMMEL u. Mitarb. zu nennen, die eine Verstärkung der Narkose nach Barbitursäuren durch Parasympathicomimetica fanden.

An Mäusen können wir durch Bestimmung der Seitenlage zeigen, daß Physostigmin, Acetylcholin und Cholin die Narkosedauer des Nor-Evipans und Evipans verlängern. Die Verstärkung ist jedoch bei der Nor-Barbitursäure deutlicher als bei der N-methylierten. Nach unseren

¹ FLECKENSTEIN: Brit. J. Pharmacol. 7, 553 (1952).

Versuchen an der Pupille können wir annehmen, daß diese Verstärkung der Narkose die Folge einer Methylierung ist. Deshalb untersuchen wir auch die Einwirkung des Methionins auf die Narkosedauer der Barbitursäuren. Wir wählen als Methyldonator Methionin, da dieses nach stattgefundener Entmethylierung keinerlei pharmakologische Wirkungsäußerung zeigt, die den beobachteten Reaktionsablauf verschleiern könnte. Tatsächlich zeigt sich nun, daß Methionin die Narkosedauer der Barbitursäuren wesentlich verstärkt. Dabei werden wiederum die Nor-Barbitursäuren wie Numal, Veronal, Luminal und Nor-Evipan stärker beeinflußt als die N-methylierten wie Narkonumal, N-Methyl-Veronal, Prominal und Evipan. Auf die Narkosedauer von Urethan, Chloralhydrat und Chloralose hat Methionin dagegen keinen Einfluß.

Die qualitativ gleichartigen Ergebnisse von Methionin einerseits, Physostigmin, Acetylcholin und Cholin andererseits deuten daraufhin, daß diese Stoffe die Nor-Barbitursäuren aufmethylieren und in dieser Form als methylierte Verbindungen stabilisieren, während die Demethylierung der N-methylierten Barbitursäuren verzögert wird.

Literatur.

BUSH, M. T., and F. C. BUTLER: J. of Pharmacol. **65**, 205 (1939); **68**, 278 (1940); **69**, 277 (1940). — FROMMEL, E., A. BISCHLER, P. GOLD, M. FAVRE u. F. VALETTE: Helvet. Phys. Acta **5**, 64, 78, 85 (1947). — SLAUGHTER, D.: zit. nach FROMMEL, E. u. Mitarb. Helvet. Phys. Acta **5**, 64 (1947).

Diskussion. KIESE: Es ist wenig wahrscheinlich, daß Arterenol während seiner kurzen Wirkungsdauer zu einem großen Teil methyliert wird. Ist die Methylierung von Nor-Barbitursäuren durch Isolierung von N-Methylbarbitursäuren bewiesen worden?

HOTOVY (Darmstadt): Die vorgetragenen Befunde stehen nicht im Einklang mit den Erfahrungen der Praxis. Prominal wirkt beim Menschen schwächer als Luminal und wird daher auch in zweifach höherer Dosierung therapeutisch angewandt.

HOLTZ (Frankfurt/M.): Die Deutung von Verstärkungen der Nor-Adrenalinwirkungen durch Zugabe von Methyldonatoren (Methionin, Cholin) im Sinne einer Methylierung erscheint mir zweifelhaft, da wir mit verschiedenen Prüfmethode am Darm, an der Mausepupille, am Kaninchenblutzucker durch Methyldonatoren auch die entsprechenden Adrenalinwirkungen verstärkt fanden.

GIERTZ: Am Kaninchen konnten wir früher zeigen, daß eine kaum blutzuckerwirksame Noradrenalindosis bei gleichzeitiger intravenöser Injektion von Methionin ebenso rasch und so stark blutzuckerwirksam war wie eine gleiche Adrenalindosis. Wir versuchten nun statt Methionin Cholin zu verwenden, und es zeigte sich, daß Cholin in relativ großen Dosen — 1 mg/kg — ebenfalls wirksam war. Wurde die Cholidosis niedriger gehalten — 100 γ /kg — so unterschied sich die Wirkung der kombinierten Injektion nicht von derjenigen der Noradrenalininjektion. Gao man nun außerdem gleichzeitig Adenosintriphosphorsäure, so erfolgte jetzt wiederum ein deutlicher Blutzuckeranstieg. Die von uns erhaltenen Blutzuckersteigerungen unterschieden sich nicht signifikant von einer Steigerung durch eine der Nor-

adrenalindosis gleiche Adrenalindosis. Die Kombination Noradrenalin + Adenosin-triphosphorsäure war nicht wirksamer als Noradrenalin allein. Die Kombination Cholin + Adenosin-triphosphorsäure ist ebenso unwirksam wie Cholin und Adenosin-triphosphorsäure allein. Die starke Wirksamkeit der nach CANTONI für die Methylierung besonders wichtigen Adenosin-triphosphorsäure auf den Blutzuckereffekt der mit Methyldonatoren kombinierten Noradrenalininjektion scheint uns ein Beweis dafür zu sein, daß die Blutzuckereffekte dieser Kombinationen tatsächlich auf eine Methylierung zurückzuführen sind.

HOLTZ (Frankfurt/M.) zu GIERTZ: Hier gilt dasselbe, was ich meines Erachtens gegen die Versuchsergebnisse des Herrn DEININGER einwenden konnte, daß keine Kontrollversuche mit Adrenalin gemacht wurden. Sonst würde man gefunden haben, daß auch die glykämische Wirkung des Adrenalins durch gleichzeitige Verabfolgung von z. B. Methionin eine Verstärkung erfährt.

Schlußwort. DEININGER zu KIESE: Für die Wahrscheinlichkeit, daß Arterenol im Organismus methyliert wird, sprechen die Befunde, daß die angenommene Aufmethylierung des Arterenols zu Adrenalin mittels Methyldonatoren durch Methylacceptoren wie Tellur und Selen verhindert wird. Untersuchungen über die Isolierung von N-Methyl-Nor-Barbitursäuren wurden noch nicht unternommen, sind aber in Aussicht genommen.

Zu HOTOVY: Die Dauer der Narkose nach Prominal an Mäusen war nicht größer als nach Luminal. Prominal macht hier zum Unterschied von anderen N-methylierten Barbitursäuren eine Ausnahme. Es war jedoch möglich, durch Gaben von Methionin nicht nur die Narkosedauer, sondern auch die Narkosetiefe nach Luminal wesentlich zu verstärken, während dies bei Prominal nicht möglich war. Prominal ist mehr ein Antiepilepticum als Sedativum.

Zu P. HOLTZ: Eine Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Methyldonatoren wie Methionin und Cholin sowie durch N-methyl-Barbitursäuren konnten wir an der denervierten Pupille in durchgeführten Kontrollversuchen nicht finden. Die Ergebnisse von HOLTZ sprechen jedoch keineswegs gegen die von uns angenommene Deutung der Aufmethylierung. Wenn man die Möglichkeit in Erwägung zieht, daß einerseits Methyldonatoren die im Organismus vorhandene Nor-Adrenalinmenge aufmethylieren, andererseits die angenommene Demethylierung des Adrenalins verzögern, dann ist es auch denkbar, daß die Wirkung von gleichzeitig oder nachfolgend gegebenem Adrenalin verstärkt wird.

JOACHIM ALBERTY (Helsinki): H-Substanz und Anaphylaxie beim Meerschweinchen.

In quantitativen Versuchen am isolierten Meerschweinchendarm wird nachgewiesen, daß bei der Antigen-Antikörper-Reaktion eine H-Substanz freigesetzt wird, und daß diese die anaphylaktische Kontraktion des Organs verursacht. Die glatten Muskelzellen scheinen nicht Hauptort der Freisetzung zu sein, denn die Verlaufsform der anaphylaktischen Kontraktionen zeigt im Mittel die Wirkungscharakteristik einer „extrinsic“ Substanz. Atropin hemmt erst in histaminantagonistisch wirksamen Konzentrationen die H-Substanz-Wirkung. Im Gegensatz zu Histamin kontrahiert die H-Substanz den isolierten Rattenuterus, ebenso

wie die H-Substanz aus Meerschweinchenlunge. Tripelennamin („Pyribenzamin“) hemmt histaminbedingte Kontraktionen im Mittel 4mal stärker als anaphylaktische Kontraktionen, dieser Unterschied ist statistisch signifikant: Zufallswahrscheinlichkeit $P < 0,0005$. Es besteht kein überzeugender Anhalt dafür, daß die geringere antianaphylaktische Wirkung von Tripelennamin auf besondere lokale Wirkungsbedingungen der bei der Antigen-Antikörper-Reaktion im Gewebe freiwerdenden H-Substanz zurückgeführt werden könnte. Das Verhältnis von histamin-antagonistischer und antianaphylaktischer Wirksamkeit von Tripelennamin am isolierten Darm entspricht quantitativ weitgehend dem Wirksamkeitsverhältnis am lebenden Meerschweinchen. Die die akuten Symptome des anaphylaktischen Schocks des Meerschweinchens verursachende H-Substanz kann demnach im wesentlichen Anteil weder mit Acetylcholin noch mit Histamin identisch sein.

Diskussion. H. FRIEBEL (Bonn): Das Ergebnis, das ALBERTY am Rattenuterus erhalten hat, bestätigt und ergänzt Angaben, die SCHILD 1936 und 1949 gemacht hat. SCHILD konnte die unterschiedliche Ansprechbarkeit gegenüber dem anaphylaktischen Gift und Histamin am Meerschweinchenuterus nachweisen. Auch SCHILD glaubt, daß dieser Befund die Histamintheorie des anaphylaktischen Schocks fragwürdig macht.

Die quantitativen Angaben über die unterschiedliche Pyribenzaminwirkung am Darm gegenüber der Histaminkontraktion einerseits und der anaphylaktischen Kontraktion andererseits interessierte mich besonders, weil wir beim Meerschweinchenasthma im Prinzip zu gleichen Ergebnissen gekommen waren. Die Spanne zwischen antihistaminischer und antianaphylaktischer Wirkung war allerdings noch größer. Von Pyribenzamin benötigen wir zur Lösung des anaphylaktischen Bronchospasmus mehr als das 10fache der Menge, die zur Lösung des Histaminbronchospasmus ausreicht. Derartige Befunde sind nicht nur für die Diskussion der Gifttheorie des anaphylaktischen Schocks wichtig, sondern auch für die Neuentwicklung antiallergisch wirksamer Substanzen. Bei der vergleichenden Prüfung mehrerer Antihistaminikörper am Histaminasthma und allergischen Asthma zeigte sich, daß nicht alle Substanzen im gleichen Ausmaß gegenüber Histamin stärker und gegenüber dem anaphylaktischen Schock schwächer wirksam sind. Allercur z. B., das zur Beseitigung des Histaminasthmas höher dosiert werden muß als Pyribenzamin, löst den allergischen Bronchospasmus in weitaus geringerer Dosis als Pyribenzamin. Auch GREEN hat Versuche veröffentlicht, in denen er zeigt, daß die antihistaminische Wirkungsstärke von Histaminantagonisten mit ihrer anti-allergischen Potenz nicht parallel geht. Da diese Körper therapeutisch vorwiegend bei allergischen Krankheiten angewandt werden, sollte man bei Neuentwicklungen nicht den Histamintest, sondern allergische Krankheitszustände zum hauptsächlichen pharmakologischen Kriterium machen.

Schlußwort. ALBERTY: 1. Trotz Zweifeln an der Histamin-Theorie der Anaphylaxie wird diese von SCHILD meines Wissens nicht abgelehnt. — 2. Der Streuungsbereich der Ergebnisse am isolierten Meerschweinchendarm überschneidet sich mit dem der Ergebnisse von FRIEBEL am Meerschweinchenasthma. — 3. Die quantitativ verschiedene Wirksamkeit verschiedener Antihistaminica bei einem so komplexen Geschehen wie dem Meerschweinchenasthma ist verständlich. Das allgemeine phar-

makologische Wirkungsspektrum verschiedener Antihistaminica ist keineswegs einheitlich — die histaminantagonistische Wirkungsqualität steht oft zu Unrecht zu sehr im Vordergrund der Betrachtung. Man muß daran zweifeln, daß die histaminantagonistische Wirkung überhaupt eine Beziehung zur antianaphylaktischen (anti-allergischen) Wirkung hat. Die Forderung FRIEBELS, die Brauchbarkeit von anti-allergischen Substanzen experimentell an allergischen Erscheinungen zu prüfen, kann deshalb nur nachdrücklich betont werden.

J. DÖRNER (Gießen/Bad Nauheim): Zur Ursache der Dilatation der Skelettmuskel- und Coronargefäße nach intravenöser Injektion von Adrenalin und Arterenol.

Zwei Gefäßgebiete sind es vor allem, die nach intravenöser Injektion von Adrenalin und Arterenol mit einer aktiven Dilatation zu reagieren vermögen: die Skelettmuskel- und die Coronargefäße. Über die Ursachen ihres abweichenden Verhaltens sind die verschiedensten Theorien aufgestellt worden, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Versuche mit intravenöser und lokaler intraarterieller Injektion von Adrenalin und Arterenol, die wir zunächst aus anderen Gründen durchführten, ließen sich hinsichtlich der Deutung der dabei erhaltenen Ergebnisse mit den bisherigen Vorstellungen von der Ursache der zur Diskussion stehenden Dilatation nicht ohne weiteres in Einklang bringen. Wir versuchten daher, durch Injektion von Adrenalin und Arterenol in die verschiedensten arteriellen Kreislaufabschnitte den Entstehungsort und die Ursache der primären Dilatation der Skelettmuskel- und Coronargefäße abzugrenzen.

Methodisch gingen wir so vor, daß wir an 53 Hunden die Durchblutung der Hinterextremitäten mit der REINSCHEN Thermoströmuhr registrierten. Die Hautäste waren in einem Teil der Versuche unterbunden. Daneben maßen wir gleichzeitig auch die Durchblutung in den wichtigsten übrigen Gefäßgebieten. An 10 Hunden wurde die Coronardurchblutung an der A. coron. dextra registriert. Adrenalin und Arterenol wurden abwechselnd in einer Dosierung von 0,01—1,0 γ /kg intravenös und an verschiedenen Stellen des arteriellen Systems injiziert. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug $\frac{1}{2}$ min.

Die *Ergebnisse* lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Bei intravenöser Injektion von Adrenalin und Arterenol kommt es in der Skelettmuskulatur der Hinterextremität in den meisten Fällen zu einer primären Mehrdurchblutung als Ausdruck einer aktiven nicht vom Blutdruckverhalten abhängigen Gefäßdilatation. Diese Mehrdurchblutung tritt ebenfalls auf, wenn beide Substanzen mittels eines Katheters in die Aorta asc., den Arcus Aortae, die Aorta thoracica desc. und den oberen Abschnitt der Aorta abd. injiziert werden. Die Mehrdurch-

blutung fehlt dagegen und es resultiert infolgedessen eine primäre Durchblutungsabnahme in der Hinterextremitätenmuskulatur bei Injektion von Adrenalin und Arterenol in den mittleren und unteren Abschnitt der Aorta abd. und direkt in die A. fem. Bei Injektion in die A. anonyma, A. carot. com., A. subcl. sin., A. lienalis und A. mesent. sup. erfolgt in der Peripherie keine oder höchstens eine blutdruckabhängige Durchblutungsänderung. Die Mehrdurchblutung setzt bei intravenöser Injektion im Durchschnitt 5—7 sec früher ein als die primäre Durchblutungsabnahme in den Hinterextremitätengefäßen und beginnt bei Injektion in die Aorta oft innerhalb einiger Sekunden. Der Beginn zeigt keine Abhängigkeit von der Dosierung.

2. In den Coronararterien erfolgt nach intravenöser Injektion von Adrenalin und Arterenol ebenfalls eine Mehrdurchblutung, die zu einem Teil blutdruckabhängig, zum Teil aber als Folge einer aktiven Gefäßdilatation anzusehen ist. Diese aktive Dilatation der Coronararterien ist auch zu erhalten, wenn beide Substanzen mittels eines Katheters in die Aorta asc. peripherwärts der Abgänge der Coronararterien injiziert werden. Sie wird schwächer, je weiter man sich mit der Injektionsstelle von den Coronarabgängen entfernt und fehlt bei Injektion in den absteigenden Teil des Aortenbogens sowie bei Injektion in die A. anonyma und A. subcl. sin. Der Beginn der Mehrdurchblutung erfolgt im Durchschnitt zur gleichen Zeit wie in der Skelettmuskulatur.

Diese Befunde zeigen zunächst, daß die Dilatation nicht einer lokalen Adrenalin- und Arterenolwirkung auf die Gefäßmuskulatur zuzuschreiben ist, sondern auf nervalem Wege ausgelöst sein muß, wie dies auch aus den Arbeiten verschiedener anderer Autoren in eindeutiger Weise hervorgeht. Weiterhin konnten wir mit unseren Ergebnissen eine zentrale, reflektorische oder ganglionäre Wirkung des Adrenalins und Arterenols als Ursache der Gefäßdilatation ausschalten. Per exclusionem gelangten wir zu dem Schluß, daß sich in der Aorta abd. oder deren unmittelbarer Nähe in der Höhe der Abgänge von A. coeliaca und A. mesent. sup. adrenalin- und arterenolempfindliche Chemoreceptoren befinden, die durch beide Substanzen in Erregung versetzt werden und deren Reizung eine Dilatation der Skelettmuskelgefäße bewirkt. Es handelt sich dabei um dasselbe Aortensegment, in dem von HEYMANS Pressoreceptoren festgestellt worden sind. Ebenso muß geschlossen werden, daß in der Aorta asc. oder deren Nähe, vielleicht im Ganglion aorticum supracardiale, sich adrenalin- und arterenolempfindliche Chemoreceptoren befinden, deren Reizung zu einer Weiterstellung der Coronararterien führt. Das Paraganglion aorticum supracardiale ist als chemosensibles Organ bekannt und wird von der Aorta aus gegenüber dem Abgang der A. anonyma mit einem eigenen Blutgefäß versorgt.

J. DÖRNER und H. J. KUSCHKE (Gießen/Bad Nauheim): Handelt es sich bei der auf nervösem Wege ausgelösten Gefäßdilatation nach Injektion von Adrenalin und Arterenol um eine Senkung des Sympathicotonus oder um eine Erregung vasodilatatorischer Nervenfasern?

In Weiterverfolgung der von DÖRNER erhobenen Befunde wurde versucht die Frage zu klären, ob die nur auf nervalem Wege mögliche primäre Dilatation der Skeletmuskelgefäße nach intravenöser Injektion von Adrenalin oder Arterenol auf einer Hemmung des Sympathicotonus beruht — gleichgültig ob diese zentralen, reflektorischen oder ganglionären Ursprungs ist —, oder ob der Dilatation eine Erregung vasodilatatorischer Nerven zugrunde liegt.

Nachdem schon eine Reihe von uns erhaltener Befunde gegen die erstere Annahme gesprochen hatte, konnte in weiteren Versuchen eine Klärung dieser Frage herbeigeführt werden. Mittels Durchblutungsmessung mit der REINSCHEN Stromuhr wurde an Hunden die Beeinflussbarkeit der zur Diskussion stehenden Dilatation durch vorhergehende Novocaininjektion in die A. femoralis untersucht.

Es fand sich dabei, daß die Adrenalin- und Arterenoldilatation durch Novocain in der Dosierung von 2—5 mg/kg immer stark abgeschwächt oder beseitigt wurde und mit abklingender Novocainwirkung wiederkehrte. Demgegenüber war die durch Hemmung des Sympathicotonus bedingte periphere Dilatation bei Hyperventilation der Tiere durch vorhergehende Novocaininjektion in den meisten Fällen nicht beeinflussbar. Eine Zusammenstellung aller diesbezüglichen Befunde ergibt, daß die Adrenalin- und Arterenoldilatation immer abgeschwächt wurde, in 17 Versuchen im Durchschnitt um 68%. Die Dilatation infolge Hyperventilation wurde dagegen nur in 3 von 14 Versuchen durch vorhergehende Novocaininjektion vermindert, und zwar durchschnittlich um 43%.

Es darf daraus geschlossen werden, daß eine Senkung des Sympathicotonus der primären Adrenalin- und Arterenoldilatation nicht zugrunde liegt.

Nach Ausschluß dieser Möglichkeit muß eine Beteiligung vasodilatatorischer Nerven beim Zustandekommen der Dilatation gefolgert werden. Dabei ist an die im Grenzstrang des Sympathicus verlaufenden Vasodilatatoren zu denken, deren Reizung ebenfalls nur in der Skelettmuskulatur eine Gefäßdilatation bewirkt.

Zur Frage der Natur dieser Fasern wurde in weiteren Versuchen die Beeinflussbarkeit der Adrenalin- und Arterenoldilatation durch vorherige lokale intraarterielle Injektion von Physostigmin und Atropin in Dosen von 5—20 bzw. 5—200 γ /kg geprüft.

Die Versuche mit Physostigmin ergaben, daß eine deutliche Verstärkung der Dilatation nur in 3 von 11 Versuchen erzielt werden konnte.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam es mit Atropin: hier war eine Abschwächung der Dilatation nur in 3 von 9 Versuchen zu erreichen.

Aus diesen Befunden geht damit nicht mit genügender Deutlichkeit hervor, daß es cholinergische Fasern sind, welche die Dilatation unter Freisetzung von Acetylcholin vermitteln. Die Dilatation muß jedoch durch eine Substanz ausgelöst werden, durch deren Einwirkung die Gefäßmuskulatur gegen die konstriktorische Adrenalin- und Arterenolwirkung unempfindlich gemacht wird. Es ergibt sich dies aus folgendem: vergleicht man an der intakten Extremität miteinander die Dauer der primären und der sekundären Durchblutungsabnahme auf intravenöse Injektion von Adrenalin oder Arterenol, so zeigt sich, daß bei den Dosierungen von 0,1 und 0,5 γ /kg die sekundäre Durchblutungsabnahme ebenso lang oder länger dauert als die primäre Durchblutungsabnahme, obwohl sie um die Dauer der primären Zunahme verspätet einsetzt. Die konstriktorische Adrenalin- und Arterenolwirkung kann also während der primären Gefäßdilatation nicht wirksam werden.

Ganz entsprechende Verhältnisse liegen während der Acetylcholidilatation vor, wie Befunde von REIN und seinen Mitarb. ergaben. Eigene Versuche zeigten, daß bei gleichzeitiger lokaler intraarterieller Injektion von Acetylcholin und Arterenol sich stets zuerst die dilatatorische Acetylcholinwirkung durchsetzt, und erst danach die unverminderte konstriktorische Arterenolwirkung beginnt.

Es besteht also offensichtlich eine Ähnlichkeit im Verlauf dieser Durchblutungsreaktion mit der bei intravenöser Injektion von Adrenalin oder Arterenol. Jedoch ist die Identität der für die Adrenalin- und Arterenoldilatation verantwortlichen Substanz mit Acetylcholin damit noch nicht erwiesen. Die Natur der die Erregung übertragenden Fasern muß damit weiterhin offengelassen werden.

Diskussion. KIESE: Adrenalin kann in niedrigen Konzentrationen gefäßerweiternd, in hohen gefäßverengend wirken. Wird die Abhängigkeit der Adrenalinwirkung vom Injektionsort (vor -bzw. hinter dem Abgang großer Gefäße) durch verschiedene Konzentrationen am Wirkungsort bedingt?

EICHLER (Heidelberg): Eine Ausschaltung des Eindringens einer Substanz in die Coronarien am Anfang der Aorta ist nicht gut möglich, weil durch Wirbelbildung (Klappenstellung usw.) ein Rücktransport erfolgen kann. Man müßte durch Gefrieren der angenommenen Rezeptorenfelder den Beweis eindeutiger gestalten.

FELIX (München): Unter Mehrdurchblutung eines Organes verstehen wir, daß sein Capillargebiet besser durchblutet wird. Wenn man einen vermehrten Durchfluß einer Arterie oder einer Vene festgestellt, so ist damit nicht gesagt, ob auch das Capillargebiet besser durchblutet wird. Das Blut kann auch durch die arteriovenösen Anastomosen direkt in die Venolen fließen (z. B. bei Acetylcholin). Man muß also den Durchfluß der zuführenden und den des abführenden Gefäßes gleichzeitig messen, und kann dann aus der Zeitdifferenz zwischen dem Auftreten der Durchblutungsänderung in der Arterie und in der Vene schließen, ob tatsächlich eine „Mehrdurchblutung“ vorliegt.

SCHMIDT (Freiburg/Br.): Die Gleichstellung von Mehrdurchblutung und Gefäßdilatation erscheint nach den anatomischen Befunden von FISCHER (Freiburg) für die genannten Gefäßgebiete nicht ohne weiteres zulässig. Nach FISCHER haben diese Gefäße in Mittelstellung einen ovalen Querschnitt. Wenn diese Gefäße sich kontrahieren, dann wird der Querschnitt rund, wodurch der Gefäßinnenwiderstand in der Potenz abnimmt. Es ist also durchaus möglich, daß verengte Gefäßgebiete eine größere Durchblutung aufweisen, als das im Ruhezustand der Fall ist. An diesen anatomischen Befunden ist bei Durchblutungsmessungen kaum vorbeizugehen, um so mehr, als sie die Befunde von Herrn DÖRNER zwanglos erklären.

Schlußwort DÖRNER zu KIESE: Konzentrationsunterschiede sind für die differente Wirkungsweise bei intravenöser bzw. intraaortaler und lokaler i. a. Injektion nicht verantwortlich zu machen.

Zu EICHLER: Eine rückläufige Blutströmung in der Aorta asc. infolge Wirbelbildung, die zu einem rückläufigen Transport der injizierten Substanzen in die Coronararterien führen könnte, wird abgelehnt, da bei einer Entfernung von z. B. 1 cm von den Abgängen der Coronararterien ein solcher Mechanismus äußerst unwahrscheinlich ist.

Zu FELIX: Der Begriff der Mehrdurchblutung ist nach der bisher gebräuchlichen Nomenklatur und den vielen diesbezüglichen Literaturangaben nicht auf die Fälle zu beschränken, in denen nur eine Mehrdurchblutung des Capillargebietes vorliegt. Abgesehen davon, daß sonst bei den noch geringen Kenntnissen über die periphere Durchströmungsregulierung dieser Begriff in den meisten Fällen ganz fallen gelassen werden müßte. Eine Diskussion darüber ist aber für die von uns bearbeitete Fragestellung insofern von untergeordneter Bedeutung, als es uns lediglich darauf ankam, die Abhängigkeit der Wirkungsweise vom Injektionsort aufzuzeigen, um daraus das Vorhandensein spezifischer Mechanismen zu folgern.

Zu SCHMIDT: Dem Einwand von Herrn SCHMIDT ist unter anderem allein durch die aufgezeigte Tatsache zu begegnen, daß zwischen intravenöser bzw. intraaortaler Injektion und lokaler i. a. Injektion eindeutige Wirkungsunterschiede bestehen, die eine solche von Herrn SCHMIDT diskutierte Möglichkeit ausschließen.

W. L. M. PERRY und H. REINERT (London): Die ganglionäre Komponente der Herzglykosidwirkung.

In Versuchen am LANGENDORFF-Präparat des Katzenherzens haben PERRY u. TALESNIK zeigen können, daß Acetylcholin (Ac.) in Dosen von 1—5 γ fast ausschließlich die intramuralen Vagusganglien erregt. Die beim Studium der Literatur auftretenden Mißverständnisse sind z. B. durch die Tatsache bedingt, daß Ac. am isolierten Vorhof nicht ganglionär wirkt, sondern direkt an der Muskelzelle angreift. Ac. bewirkt am isolierten Herzhörstreifenpräparat einen Anstieg des Ruhepotentials der Muskelzellmembran wie BURGEN u. TERROUX festgestellt haben.

Nach unserer Meinung verursacht Ac. am LANGENDORFF-Herzen eine Depolarisation der intramuralen Ganglienzellen. Dieser Depolarisation folgt eine Erregung der postganglionären Fasern, die zur Freisetzung von Ac. an den Vagusendigungen führt und eine Hyperpolarisation der Muskelmembran erzeugt. Dadurch ist die Hemmung der Muskelkon-

traktion, d. h. der negativ chronotrope und inotrope Effekt des Ac. am Herzmuskel bedingt. Die Vermutung, daß die Empfindlichkeitssteigerung des Myocards für Vagusreize durch Herzglykoside ihre Ursache in der Sensibilisierung intrakardialer Vagusganglien haben könnte, wurde erstmalig von KONZETT u. ROTHLIN ausgesprochen. Sie konnten zeigen, daß die Herzglykoside Scillaren-A, k-Strophanthin- β , Lanatosid-C und Digitoxin die chemische und elektrische Erregbarkeit des isoliert durchströmten oberen Cervicalganglions der Katze erhöhen.

Da kleine Dosen Ac. am Herzen ganglionär angreifen lag es nahe zu prüfen, ob die Vermutung von KONZETT u. ROTHLIN zu Recht besteht. Wir konnten die Befunde der genannten Autoren bestätigen und haben versucht, quantitative Aussagen über die Empfindlichkeitssteigerung im isoliert durchströmten Cervicalganglion der Katze nach g-Strophanthin (g-St.) zu machen. Wir bestimmten die Schwellendosis und maximale Erregbarkeit für Ac. und präganglionäre Reizung. Die durch 0,5 bis 30 γ g-St. hervorgerufene Empfindlichkeitssteigerung für Ac. und präganglionäre Reizung beträgt am isolierten Cervicalganglion etwa 150% und hält etwa 5—20 min an. Dieser Erregbarkeitssteigerung folgt in einigen Präparaten eine Abnahme der Empfindlichkeit.

Um die sensibilisierende Wirkung des g-St. auf Ganglienzellen näher zu analysieren benutzten wir Tetra-methyl-ammonium (TMA). TMA wirkt nach PATON u. PERRY depolarisierend auf Ganglienzellen. Die Wirkung unterschwelliger Dosen TMA wird am Halsganglion durch g-St. eindeutig verstärkt. Es ist also unwahrscheinlich, daß die durch g-St. bewirkte Empfindlichkeitssteigerung auf einer Cholinesterasehemmung beruht. Man könnte vermuten, daß das Ruhepotential der Membran durch g-St. reduziert und dadurch die Schwellendosis für Ac. herabgesetzt ist. Um zu entscheiden, ob g-St. die intramuralen parasympathischen Ganglien beeinflußt, wurde mittels Hexamethonium (C 6) bzw. Nicotin eine Blockade der Ac.-Wirkung und der Vagusreizung am LANGENDORFF-Präparat herbeigeführt. Zu diesen Versuchen verwandten wir das isolierte Herz von Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratte. An diesen Präparaten wird die Wirkung des Ac. und der Vagusreizung durch g-St. verstärkt. Diese Verstärkung des Ac.-Effektes und der Vagusreizung durch g-St. wird z. B. am Katzenherzen bei Durchströmung mit 200 γ /ml C 6 aufgehoben und ist nach Auswaschen des C 6 wieder auslösbar. Der gleiche Befund ist bei Durchströmung mit $2 - 4 \cdot 10^{-6}$ Nicotin zu erheben. Die Herzen sämtlicher verwandten Tierarten verhalten sich qualitativ grundsätzlich gleich, nur variieren die zur Blockade nötigen C 6- und Nicotin-Konzentrationen.

TMA wird in gleicher Weise wie Ac. durch g-St. in seiner negativ chronotropen Wirkung verstärkt; auch hier hebt C 6 die Sensibilisierung der TMA-Wirkung durch g-St. auf.

Die Befunde mit TMA, C6 und Nicotin sprechen nach unserer Meinung für eine ganglionäre Wirkung der Herzglykoside. Die Bradycardie in den Anfangsstadien der Digitalisintoxikation wird somit als eine Sensibilisierung intramuraler parasymphischer Ganglien für Ac. vielleicht im Sinne einer Herabsetzung des Ruhepotentials der Ganglienzellen erklärt.

Literatur.

BURGEN and TERROUX: J. of Physiol. **120**, 449 (1953). — KONZETT et ROTHLIN: Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 343 (1952). — PATON and PERRY: J. of Physiol. **119**, 43 (1953). — PERRY and TALESIK: J. of Physiol. **119**, 455 (1953).

Diskussion. E. WESTERMANN (Frankfurt): Die Befunde von PERRY und REINERT machen es wahrscheinlich, daß die negativ chronotrope Wirkung der Digitalisglykoside auf einer erhöhten Empfindlichkeit intramuraler parasymphischer Ganglien im Herzen gegen Acetylcholin beruht, möglicherweise durch Änderung des Membranpotentials.

Für die Membranwirkung der Digitalisglykoside sprächen auch eigene Befunde. Versuche am indirekt gereizten Mäusezwerchfell ergaben, daß weder geringe noch hohe Digitalisgaben einen Einfluß auf die neuromuskuläre Übertragung haben. Es ließ sich jedoch zeigen, daß g-Strophanthin ($1:10^5$) die Depression depolarisierend wirkender Substanzen (Acetylcholin, Succinylcholin und Decamethonium) verstärkte und sich antagonistisch gegenüber dem stabilisierend auf das Membranpotential wirkenden d-Tubocurarin und *Flaxedil* verhielt. Eine nennenswerte Cholinesterasehemmung des g-Strophanthin ließ sich unter vergleichbaren Versuchsbedingungen ausschließen. Auch Digoxin und Digitoxin verstärken die Decamethoniumwirkung und verhalten sich antagonistisch gegenüber der d-Tubocurarinwirkung, während sich mit anderen Sterinkörpern (Natriumtaurocholat und Testoviron) keine ähnlicher Synergismus bzw. Antagonismus nachweisen ließ. Auf Grund dieser Befunde kann man annehmen, daß Digitalisglykoside eine Membranwirkung „im Sinne einer Depolarisation“ haben, eine Eigenschaft, die nicht auf einer Cholinesterasehemmung beruht und nicht allein dem Sterinskelet zukommen kann.

Schlußwort. REINERT: Eine Wirkung der Herzglykoside auf die Cholinesterase kann nach den Befunden mit TMA ausgeschlossen werden. — Die Herzglykoside besitzen sicher keine depolarisierende Wirkung, da ihnen die ganglionär erregende Eigenschaft depolarisierender Substanzen fehlt. Neben der Möglichkeit, daß sie das Ruhepotential der Ganglienzelle herabsetzen, ist vielleicht auch eine Erhöhung der Leitungsgeschwindigkeit in der postganglionären Faser anzunehmen.

W. WILBRANDT und R. CAVIEZEL (Bern): Herzglykosidwirkung und Ionen-Transporte bei Erregung und Erholung.

Die Frage, ob die Herzglykoside am Erregungsvorgang oder am Kontraktionsvorgang (oder an beiden) angreifen, ist nicht geklärt. Anzeichen für einen Angriffspunkt auf der Erregungs- (oder Erholungs-) seite mehrten sich jedoch⁷.

Die Beteiligung der Natrium-Ionen am Erregungsprozeß im Nerven wurde von HODGKIN u. HUXLEY³ zunächst aus der Beobachtung abgeleitet, daß Variation der Natrium-Ionen-Konzentration das Aktions-

Potential in gesetzmäßiger Weise beeinflusst. Wir haben versucht, einen ähnlichen Weg in der Frage der Herz-Glykosid-Wirkung einzuschlagen, nämlich zu prüfen, ob diese Wirkung in charakteristischer Weise von der Konzentration der Ionen abhängt, deren Transport durch die Zellmembran Erregung und Erholung charakterisiert.

Methode. Es wurde hauptsächlich das isotonisch arbeitende, elektrisch getriebene Frosch-Ventrikel-Präparat mit Volumregistrierung, in einigen Versuchen auch das auxotonisch arbeitende spontan schlagende Meerschweinchen-Vorhof-Präparat* benützt. (Eine Darstellung der Anordnung für die Volumregistrierung erfolgt an anderer Stelle.) Einwirkung des Glykosids und Testung der eingetretenen Wirkung erfolgten getrennt: Einwirkung in einer ersten Phase *E* mit variablen Ionen-Konzentrationen, Testung in einer zweiten Phase *T* mit standardisierten Ionen-Konzentrationen (unter Calcium-Mangel). Alle im folgenden erwähnten Änderungen der Ionen-Konzentrationen beziehen sich auf *E*. Die Wirkung wurde folgendermaßen gemessen und bezeichnet: Hubhöhe (beim Frosch-Ventrikel = Schlagvolumen) während Vorperiode in Normal-RINGER = H_o , während *T* = H_T . Relative Hubhöhe = $H_R = H_T/H_o$. Prozentuale Wirkung des Glykosids (oder einer modifizierten RINGER-Lösung ohne Glykosid) = $(HR_{II} - HR_I)/HR_I \cdot 100 = W$ (I vor der Einwirkung der zu prüfenden Lösung, II nachher). Das verwendete Herzglykosid war k-Strophanthin (Strophosid Sandoz), das in einer Konzentration von 0,3—1,0 γ /ml 1 min lang auf das Präparat einwirkte, und dann (vor *T*) wieder entfernt wurde.

Resultate. Die meisten Versuche wurden am Frosch-Ventrikel durchgeführt, einige (K-Mangel und Ca-Mangel) auch am Meerschweinchen-Vorhof. Die Resultate waren:

1. Die Strophantosid-Wirkung wird verstärkt durch K-Mangel und Ca-Überschuß, abgeschwächt durch Ca-Mangel und K-Überschuß. Quantitativ am stärksten ist der Einfluß K-freier RINGER-Lösung, der die Strophantosid-Wirkung verachtfachte.
2. K-Mangel und Ca-Überschuß können (bei dem von uns verwendeten Kriterium) selbst herzoglykosid-ähnliche Wirkungen auslösen, die aber schwächer sind als diejenigen des Glykosids in der gleichen Lösung. Ca-Mangel und K-Überschuß wirken antagonistisch.

Besprechung. Die Resultate berühren sich mit denjenigen von SZENT-GYÖRGYI, der am Frosch-Ventrikel mit dem Kriterium der BOWDITCHschen „Treppe“ ebenfalls gleichgerichtete Wirkungen von Herzglykosid und K-armen Lösungen fand (Unterdrückung der Treppe). Er schloß, daß die Treppe auf der Kalium-Aufnahme in die Faser während der Er-

* Für die Einführung in die Methode sind wir Herrn Prof. H. BURN zu Dank verpflichtet.

holung beruht und daß Herzglykosid diese Aufnahme hemmt. SCHATZMANN⁶ fand in der Tat am Erythrocyten, daß Herzglykosid den offenbar analogen Prozeß der Natrium-Herausbeförderung und Kalium-Aufnahme (zweite Phase des HARRISSchen Versuchs) unterdrückt.

Ein neuer Zug an unseren Versuchen ist die Beziehung zum Calcium. Es scheinen zunächst vor allem zwei Deutungen möglich, die mit den Resultaten in Einklang wären:

1. Calcium wirkt herzglykosid-ähnlich, indem es ebenfalls den Einstrom von Kalium in der Erholung hemmt. Diese Deutung berührt sich mit derjenigen, die RUMMEL u. a.² ihren Versuchen am Zwerchfell geben.

2. Calcium ist an den Ionen-Verschiebungen bei Erregung und Erholung beteiligt, und zwar jeweils gleichgerichtet mit Natrium (Einstrom bei der Erregung, Austritt in der Erholung).

Eine Entscheidung ist nur experimentell möglich. Die zweite Deutung scheint uns aber in einem nicht unwichtigen Punkt einen Vorteil zu bieten, wegen dessen wir sie bevorzugen möchten: Wenn auch Calcium durch die Membran transportiert wird, so daß zwischen Außen- und Innen-Lösung ein Gleichgewicht sich einstellen kann, kommt das Actomyosin unter den Einfluß wechselnder Calcium-Konzentrationen. Die bekannte¹ und sehr ausgesprochene kontraktur-begünstigende Wirkung des Calcium auf Actomyosin könnte in diesem Fall als die Grundlage der Calcium- und der Digitalis-Kontraktur betrachtet werden. Für die SZENT-GYÖRGYISCHE Deutung dagegen, nach der dem Auswärts-Transport von Kalium die entsprechende Rolle zukommen würde, besteht die Schwierigkeit, daß Kalium- und Natriumverschiebungen bei Erregung und Erholung im wesentlichen gegenläufig und in etwa gleichen Mengen erfolgen, daß aber andererseits Actomyosin zwischen Natrium und Kalium nicht unterscheidet, so daß eine ausgesprochene Wirkung von dieser Seite her kaum zu erwarten ist.

Die ausgesprochene Bedeutung der Kalium-Konzentration wird auch im Rahmen dieser Deutung verständlich, wenn die von HODGKIN u. KEYNES⁴ am Nerven gezeigte obligatorische Koppelung zwischen Natrium- und Kalium-Transport in der Erholung erstens auch am Herzmuskel besteht und wenn zweitens in dieses Koppelungs-System auch der Calcium-Transport angeschlossen ist.

Literatur.

- ¹ BOZLER, E.: *Am. J. Physiol.* **167**, 276 (1951); **168**, 760 (1952). — ² GOSSEWEILER, N., K. KIPFER, G. PORETTI u. W. RUMMEL: *Verh. dtsh. pharmakol. Ges.*, 20. Tagg. 1953, im Druck. — ³ HODGKIN, A. L., u. A. F. HUXLEY: *J. Physiol.* **104**, 176 (1945). — ⁴ HODGKIN, A. L., u. R. D. KEYNES: *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1954, im Druck. — ⁵ MARSH, B. B.: *Biochim. et Biophys. Acta* **9**, 229 (1952). — ⁶ SCHATZMANN, H.-J.: *Helv. Physiol. Acta* 1954, im Druck. — SZENT-GYÖRGYI, A.: *Chemical Physiology of contraction in body and heart muscle*, New York 1953.

F. TURBA und CH. SCHOLTISSEK (Mainz): Untersuchungen mit C^{14} -markierten Digitalis-Stoffen.

Der Grund, weshalb wir uns der Aufgabe einer Markierung herzwirksamer Substanzen vom Digitalistypus mit radioaktivem Kohlenstoff C^{14} unterzogen, war der, daß der chemische Nachweis dieser Stoffe unmöglich wird, wenn eine irreversible Bindung an das Erfolgsorgan eintritt.

Die komplizierte Struktur des Grundkörpers dieser Verbindungsklasse, des Digitoxigenins, und vor allem die hohe Zahl möglicher Stereoisomerer, macht es verständlich, daß eine Totalsynthese noch nicht versucht, ja selbst eine Teilsynthese noch nicht berichtet worden ist. GEILING u. Mitarb. haben daher, vor ähnlichen Problemen stehend, eine *biologische Markierung* für erfolgsversprechend gehalten: sie isolierten nach 6 Wochen dauerndem Inkubieren von Digitalistopfpflanzen mit radioaktivem Kohlendioxyd einige Milligramm eines C^{14} -Digitoxins; selbstverständlich war die Ausbeute an C^{14} sehr gering (0,01%). Wir entschlossen uns nach diesen Erfahrungen zum Versuch einer *Markierung auf dem Weg der chemischen Synthese*. Sie gelang nach drei verschiedenen Reaktionen:

1. Radioaktives Bariumcarbonat lieferte Kohlendioxyd, das zur Synthese aktiver Essigsäure nach GRIGNARD führte; das aus ihr dargestellte Essigsäureanhydrid diente zur Acetylierung von Digitoxigenin; dieses *Acetyldigitoxigenin* enthielt C^{14} im Acetylrest am Kohlenstoffatom 3.

2. Überlebende Geranienblätter, deren Stärkegehalt durch Aufbewahren im Dunkeln weitgehend vermindert war, wurden mit Kohlendioxyd inkubiert; in etwa 10 Std war der Einbau vorwiegend in die neugebildete Stärke erreicht, die isoliert und zu Glucose hydrolysiert wurde; die daraus dargestellte Acetobromglucose lieferte mit Digitoxigenin das entsprechend *Glucosid*, das dem Digitoxin analog gebaut ist.

3. Um dem Einwand zu begegnen, es könnte im biologischen Versuch zu einer Abspaltung des radioaktiven Acetyl- bzw. Glucoserestes kommen, so daß die gemessene Aktivität dann kein Maß für die vorhandene Menge des allein wirksamen Aglykons wäre, wurde eine Einführung von C^{14} an der entscheidenden Stelle, nämlich *im Lactonring*, ins Auge gefaßt: dazu wurde Digitoxigenin mit Ozon bei -80° zum Glyoxylsäureester abgebaut, schonend verseift, aktiver Bromessigester nach erfolgter Acetylierung des Rumpfmoleküls nach REFORMATZKY umgesetzt, wobei sich der Ring schloß, und schließlich mit Essigsäureanhydrid die Doppelbindung im Lactonring hergestellt. Das zunächst ölige Produkt wurde durch wiederholtes Chromatographieren an Zinkcarbonat- und Aluminiumoxydsäulen kristallisiert und völlig rein erhalten; die Ausbeute im entscheidenden Schritt betrug etwa 20%. Die Identität mit Digitoxigeninacetat ergab sich aus folgenden Kriterien:

a) bei der Chromatographie aus verschiedenen Lösungsmitteln an Formamid-getränktem oder Aluminiumoxyd-imprägnierten Filterpapier hatte das radioaktive Syntheseprodukt stets die gleichen R_F -Werte wie authentisches Acetyl-Digitoxigenin;

b) während die Vorstufe, das Keto-Triol, völlig herzinaktiv gefunden wurde, zeigte das radioaktive Produkt in der gleichen Konzentration die gleiche Aktivität im Froschherzversuch wie das Vergleichspräparat;

c) der empfindlichste Test, das Ultrarotspektrum, erwies schließlich mit völliger Sicherheit die Identität; schon eine Beimengung eines Nebenprodukts mit einer isolierten Doppelbindung vom C-Atom 14 aus verrät seine Gegenwart durch das Auftreten einer neuen Bande.

Mit der Bereitstellung dieser radioaktiv markierten Produkte, deren Darstellung im Vergleich zu den biosynthetischen Stoffen ungleich schneller, in viel besserer Ausbeute an C^{14} , in Mengen, die nur vom Ausgangsmaterial abhängen, und mit einem Gehalt an C^{14} an exakt zu definierenden Stellen des Moleküls gelingt, eröffnet sich der Zugang zu einer Fülle experimenteller Möglichkeiten. Dafür sollen 2 Beispiele angeführt werden:

1. Die Frage, ob *Digitoxin vom Herzmuskel irreversibel gebunden* wird oder nicht, hat eine viele Jahre mit Heftigkeit geführte Kontroverse ausgelöst. Die Differenzen der vertretenen Ansicht erklären sich so, daß sie sich nur auf die zu beobachtende Wirkung, nicht auf eine wahre Analyse der Substanz stützen. Der Versuch mit radioaktiv indizierter Substanz liefert unmittelbar den Entscheid: die Bindung von Digitoxigenin im Froschherzen ist zum Teil irreversibel; das Acetyldigitoxigenin kann aus dem Froschherzen also nur zum Teil ausgewaschen werden, obwohl mit dem Spülen der biologische Effekt verschwindet.

2. Nach dem *biochemischen Angriffspunkt* zielt ein Versuch, in dem die Verteilung von C^{14} -Acetyldigitoxigenin auf die einzelnen Proteinfractionen des Froschherzens geprüft wurde: danach stellen die „kontraktilen“ Proteine, Aktin und Myosin, den Hauptanteil für die Bindung. Das steht mit einem unserer früheren Befunde im Einklang, wonach Digitoxin außer seiner abdichtenden Wirkung auf die Membran (offenbar über eine Beeinflussung der Ionenpermeabilität) eine zweite Wirkung *innerhalb* der Muskelfaser hat, die sich z. B. in einer vermehrten Freisetzung des Myosinpartners Aktin äußert.

Diskussion. REITER: Läßt sich der Nachweis erbringen, daß es sich bei den in Ihren Versuchen am Froschherzen an Aktomyosin gebundenen Digitalisstoffen um unverändertes, d. h. herzwirksames Glykosid oder um nicht herzwirksame Abbauprodukte handelt?

Schlußwort. TURBA: Soweit sich die Substanz in Lösung bringen und damit einer Analyse zuführen läßt, handelt es sich auf Grund ihres Verhaltens bei der Papierchromatographie um unverändertes Acetyl-Digitoxigenin (C^{14} im Lactonring).

W.-D. ERDMANN und H. ROHR (Göttingen): Analyse der Gallensäurewirkungen auf die Herzfrequenz (Ikterusbradykardie).

Die Gallensäuren sind nach allgemeiner Auffassung für die sogenannte Ikterusbradykardie verantwortlich zu machen. Die Frage nach dem Zustandekommen dieser Herzfrequenzwirkung ist jedoch noch nicht eindeutig beantwortet. Als Angriffspunkte für die Auslösung der Bradykardie wurden im wesentlichen folgende Möglichkeiten in Betracht gezogen: 1. Direkte Wirkungen auf den Herzmuskel, 2. Wirkungen auf die Herzinnervation im Sinne einer Sympathicusdämpfung, 3. Wirkungen auf die Herzinnervation im Sinne einer Vagussensibilisierung (z. B. Cholinesterasehemmung), 4. Wirkungen auf intrakardiale Reflexrezeptoren (kardio-kardialer Reflex) und 5. Wirkungen auf die den Herzrhythmus steuernden Vaguszentren.

Die Wirkungsmöglichkeiten 1 bis 4 wurden in geeigneten Versuchsanordnungen ausgeschlossen, insbesondere konnte bei der Prüfung des Vagusreizerfolges (in verschiedenen Frequenzbereichen) keine Sensibilisierung durch Gallensäuren nachgewiesen werden. Durch experimentellen Verschußikterus und durch intracarotiale Injektion von Gallensäuren wurden typische Bradykardien ausgelöst, die durch Atropin oder Vagotomie aufzuheben waren. Im Versuch am gekreuzten Kreislauf führt die Injektion von 3—5 mg/kg Desoxycholsäure in die A. carotis (Carotissinus denerviert) des von Hund A durchströmten Kopfes eines Hundes B zu deutlicher Bradykardie, die nur auf dem Wege über eine zentrale Vaguserregung zustandegekommen sein kann. Die Desoxycholsäure ist auch in Hinblick auf die Herzfrequenzwirkung die aktivste Gallensäure. Der pathologisch erhöhte Blutgallensäurespiegel wird übrigens einer erhöhten Desoxycholsäure-Konzentration im Blut zugeschrieben (TASHIRO).

H. F. HÄUSLER (Graz): Pharmakologische Strukturanalyse von Coronararterien.

Mit der von HÄUSLER^{1, 2} angegebenen Methode wurde zusammen mit FILIPPI eine pharmakologische Strukturanalyse an isolierten Rinder-coronarien bis zu einem Durchmesser von < 1 mm ausgeführt. Im Hauptstamm der A. c. sin. und dextra überwiegen steile Schraubentouren; im R. desc., R. circumfl. und den Ästen der A. c. dextra herrschen bei einem Durchmesser von 2—5 mm ringförmige und flachschaubige Muskelfaseranordnungen vor; die kleineren Gefäße zeigen wiederum ein Überwiegen der schraubigen Anordnung. Eine solche besteht auch an den Gefäßabgängen von ringförmig strukturierten Arterien.

Viele Coronar-Ringe bzw. Schraubenstreifen zeigen deutliche Spontanrhythmik, die stundenlang anhält, bis sie unter ständiger Tonuszunahme zum Stillstand kommt. Spontanrhythmik und Tonus werden

durch O_2 , Histamin, Ergotamin, $BaCl_2$ verstärkt, durch N_2 , Adrenalin und Noradrenalin verringert, während die letzteren an gleichzeitig untersuchten Mesenterialarterien tonus- und rhythmussteigernd wirken.

Die Wirkung von je 1 $\mu g/ml$ Adrenalin und Noradrenalin war an Coronarien gleichstark. Ergotamin selbst war unwirksam, schwächte jedoch die erschlaffende Wirkung des Adrenalins (bei gleichzeitiger völliger Aufhebung der Mesenterialgefäßkontraktion). 4 I. E./ml Pituitrin zeigten an Coronarien unsichere Wirkung, an Mesenterialgefäßen Kontraktion, 10 $\mu g/ml$ $BaCl_2$ kontrahierten ebenso prompt wie Papaverin (10 $\mu g/ml$) erschlaffte. Strophanthin (1 $\mu g/ml$) wirkte auf Coronarien und Mesenterien eindeutig, Digitoxin (1 $\mu g/ml$) und Scillarem (1 $\mu g/ml$) angedeutet kontrahierend. Erschlaffung erfolgte durch Theophyllin: 0,1 $\mu g/ml$, Theobromin: 1 $\mu g/ml$, Coffein: 10 $\mu g/ml$, Natr. lact.: 100 $\mu g/ml$.

Gleichwie bei den Hirnarterien² braucht — bei dem Vorliegen von hohen Schraubentouren — der in vitro erhobenen Kontraktur nicht unbedingt eine Gefäßverengung in vivo entsprechen.

Literatur.

¹ HÄUSLER, H. F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **172**, 302 (1953). — ² PICHLER, E., W. LAZARINI u. R. FILIPPI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 420 (1953).

E. ROESCH (Darmstadt): Über die Wirkung von Cevadin, Veratridin und einem Veratrum-viride-Extrakt auf Blutdruck und Atmung von wachen Hunden.

Mit 1 Textabbildung.

Bei der pharmakologischen Prüfung verschiedener Alkaloide aus Veratrum viride und album sowie aus Veratrin an narkotisierten Katzen und Hunden konnten wir die in der Literatur beschriebene depressorische und bradykardische Wirkung bestätigen. Dagegen haben unsere Versuche an wachen Hunden wesentliche Unterschiede in der Wirkung der Rein-Alkaloide Cevadin und Veratridin und eines Veratrum-viride-Extraktes ergeben.

Für diese Untersuchungen verwendeten wir 13 Carotisschlingenhunde, deren arterieller Blutdruck nach SCHROEDER und deren Atmung mit Thoraxmanschette optisch registriert wurden. Die zu prüfenden Präparate wurden mit gleicher Geschwindigkeit intravenös injiziert. Dieses Vorgehen zogen wir der von MAISON u. STUTZMAN angegebenen Infusionsmethode vor, weil es die qualitativen Wirkungsunterschiede zwischen den verschiedenen Präparaten besser erkennen läßt. Bei Vergleichsuntersuchungen konnten wir den Befund von STUTZMAN, SIMON u. MAISON bestätigen, wonach die reflektorische Bradykardie nur nach *Injektion* von Veratrumalkaloiden — nicht aber nach langsamer *Infusion* — deutlich ausgeprägt ist.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist auf der Abb. 1 graphisch dargestellt. Jeder einzelnen Auswertung der 6 verschiedenen Versuchsreihen liegen Mittelwerte aus 5—12 (insgesamt 50) Versuchen zugrunde. — Die Kurven für den *Veratrum-viride*-Extrakt und für Veratridin ähneln sich insofern, als beide Präparate Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung bewirken, während nach Cevadin Blutdruck- und Puls-

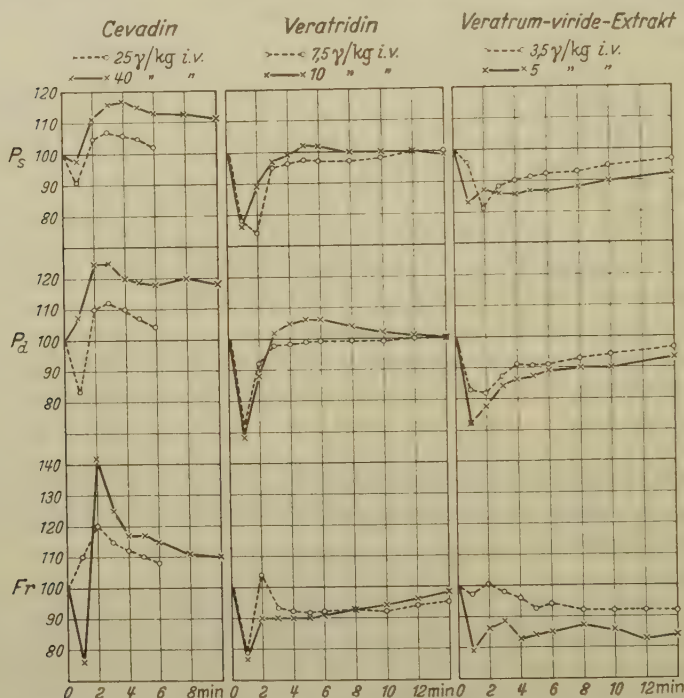


Abb. 1. Wirkung von Cevadin, Veratridin und Veratrum-viride-Extrakt auf systolischen Blutdruck (P_s), diastolischen Blutdruck (P_d) und Pulsfrequenz (Fr) von wachen Hunden. Ausgangswert jeweils = 100 %. Mittelwerte aus insgesamt 50 Versuchen.

frequenzsteigerung eintreten. Kleinere Cevadin-Dosen waren praktisch unwirksam. Auffallend ist, daß die Kreislaufwirkung des Veratrum-viride-Extraktes allmählich beginnt und lange anhält; nach Cevadin und Veratridin setzt diese Wirkung plötzlich ein und dauert nur wenige Minuten. Solche Wirkungsunterschiede sind auch bei der Atmung zu beobachten. Cevadin und Veratridin verursachen den für den BEZOLD-JARISCH-Reflex typischen, kurzdauernden Atmungsstillstand; anschließend sind die Atmungsbewegungen beschleunigt und abgeflacht. Veratrum-viride-Extrakt beeinflusst die Atmung überhaupt nicht.

Die gleichen Unterschiede, die wir zwischen der Kreislaufwirkung des Veratridins und der des Veratrum-viride-Extraktes sahen, haben

KRAYER, MOE u. MENDEZ zwischen Veratridin und Protoveratrin beschrieben. In derselben Arbeit wird von diesen Autoren erwähnt, daß beim narkotisierten Hund die atemungshemmende Dosis vom Protoveratrin wesentlich höher als die kreislaufwirksame liegt; beim Cevadin und Veratridin dagegen sollen die atemungshemmenden und die blutdrucksenkenden Dosen dicht beieinander liegen. Da im Veratrum-viride-Extrakt die Wirkung hauptsächlich durch die Esteralkaloide Germitrin, Germinidin, Germerin, die pharmakologisch dem Protoveratrin nahestehen und schließlich auch durch Protoveratrin selbst bedingt ist, ist diese Parallelität zwischen KRAYERS Befunden mit Protoveratrin und unseren mit dem Veratrum-viride-Extrakt leicht erklärbar. Wenn man sich die mehrfach diskutierte Hypothese (DAWES, MOTT u. WIDDICOMBE sowie SWISS u. MAISON) von dem sowohl zentralen als auch reflektorischen Wirkungsmechanismus der Veratrumalkaloide vor Augen führt, dann ist nach alledem denkbar, daß beim Veratrum-viride-Extrakt die zentral bedingte langanhaltende Blutdrucksenkung vorherrscht, während Veratridin vor allem reflektorisch von den sensiblen Rezeptorenfeldern im Herzen und in der Lunge über den Vagus kurzdauernd pulsfrequenz- und blutdrucksenkend sowie atemungshemmend wirkt.

Beim Cevadin muß zusätzlich ein besonderer Mechanismus vorliegen, der die Blutdrucksteigerung und Pulsfrequenzerhöhung bedingt. Dieser Effekt könnte auf zwei Wegen zustande kommen, und zwar:

1. durch Adrenalin ausschüttung aus dem Nebennierenmark. Diese Möglichkeit wurde zuerst von KUSNETZOW, dann von KRAYER, MOE u. MENDEZ sowie von MENDEZ u. MONTES in verschiedenen Experimenten wahrscheinlich gemacht, allerdings nicht nur für Cevadin, sondern auch für Veratridin und Protoveratrin. In neueren Versuchen von COTTEN u. WALTON war hierbei Veratridin sogar 7mal wirksamer als Cevadin. Da in unseren Experimenten Veratridin aber nur ausnahmsweise auch blutdrucksteigernd wirkte, verliert dieser Erklärungsversuch an Wahrscheinlichkeit.

2. durch eine zentrale blutdruck- und pulsfrequenzsteigernde Wirkung des Cevadins. Ein Hinweis auf diese zweite Möglichkeit findet sich in Arbeiten von JARISCH u. RICHTER, in denen gezeigt wurde, daß Injektionen von Veratrin in die Arteria vertebralis oder in den IV. Ventrikel von Katzen pressorisch wirkten, während die gleichen Dosen bei Injektion in die Vena jugularis die übliche Blutdrucksenkung hervorriefen (RICHTER u. THOMA). Bei Kaninchen konnte durch Injektion von Veratrin in die cysterna magna ein tödliches Lungenödem infolge starker zentraler Sympathicuserregung ausgelöst werden (JARISCH, RICHTER u. THOMA). Es ist vorstellbar, daß eine solche zentrale Wirkung des Cevadins durch die in Tierexperimenten übliche Narkose unterdrückt wird und aus diesem Grunde erst bei unseren Versuchen an wachen Hunden

augenfällig wurde. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von SPITZY, daß bei Patienten intravenös injiziertes Veratrinum purissimum „Merek“ Tachykardie auslöst.

Daß nicht nur Cavadin, sondern auch Veratridin für therapeutische Zwecke bei der Hypertonie ungeeignet sein wird, haben unsere Versuche gezeigt. In Übereinstimmung damit haben MEILMANN u. KRAYEN in der Klinik beobachtet, daß Veratridin in gerade therapeutisch wirksamen Dosen zu schweren Nebenerscheinungen führt. Im übrigen müssen wir auf Grund unserer Resultate die Forderung von KRAYER, für pharmakologische Untersuchungen des Veratrins nur noch Reinalkaloide zu verwenden, voll unterstreichen.

Literatur.

COTTEN, M. DE V., et R. P. WALTON: Arch. internat. pharmacodyn. therap. **87**, 473 (1951). — DAWES, G. S., J. C. MOTT and J. G. WIDDICOMBE: Brit. J. Pharmacol. **6**, 675 (1951). — JARISCH, A., H. RICHTER u. H. THOMA: Klin. Wschr. **18**, 1440 (1939). — KRAYER, O., and G. H. ACHESON: Physiol. Rev. **26**, 383 (1946). — KRAYER, O., G. K. MOE and R. MENDEZ: J. Pharmacol. Exper. Therap. **82**, 167 (1944); zit. nach KRAYER and ACHESON. — KUSESNETZOW, A. J.: Zschr. exper. Med. **48**, 679 (1926). — MAISON, G. L., et J. W. STUTZMAN: Arch. internat. Pharmacodyn. therap. **85**, 357 (1951). — MEILMAN, E., and O. KRAYER: Circulation **1**, 204 (1950); zit. nach Ref.: Klin. Wschr. **29**, 751 (1951). — MENDEZ, R., and G. MONTES: J. Pharmacol. Exper. Therap. **78**, 238 (1943); zit. nach KRAYER and ACHESON. — RICHTER, H., u. H. THOMA: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **193**, 622 (1939). — SCHROEDER, W.: Arch. Kreislaufforsch. **15**, 24 (1949). — SPITZY, K. H.: Dtsch. Arch. klin. Med. **196**, 37 (1949). — STUTZMAN, J. W., H. SIMON and G. L. MAISON: J. Pharmacol. Exper. Therap. **101**, 310 (1951). — SWISS, E. D., and G. L. MAISON: J. Pharmacol. Exper. Therap. **105**, 87 (1952).

D. KRAUSE (Hannover): Die Wirkung von Ergotamin und Hydergin auf die zentrale Kreislaufregulation.

Zur Erklärung der therapeutischen Wirkung des Ergotamins und der hydrierten Mutterkornalkaloide der Ergotoxingruppe wird von klinischer Seite wie auch besonders von ROTHLIN seit längerem ein zentraler Angriffspunkt angenommen. Im Tierexperiment unterscheiden sich diese Stoffe von anderen Sympathicolytica, z. B. Yohimbin, Dioxanderivaten, Dibenamin und Regitin durch ihr verschiedenartiges Verhalten gegenüber der durch die Carotis-Sinus-Entlastung ausgelösten reflektorischen Blutdrucksteigerungen und der pressorischen Wirkung von Nor-Adrenalin und Adrenalin.

In früher (1950/51) durchgeführten, bislang nicht veröffentlichten Untersuchungen an Hunden in Chloralose-Narkose über die Wirkung von Ergotamin und Hydergin konnten wir, zum Teil in Bestätigung der Ergebnisse anderer Autoren, folgendes feststellen:

1. Ergotamin schwächt in Dosierungen von 0,05—0,1 mg/kg nur den Effekt der Carotis-Sinus-Entlastung stark ab, während die pressorische Wirkung von Nor-Adrenalin und Adrenalin in der Regel verstärkt wird.

2. Ein Entzüglungshochdruck wird durch 0,05—0,1 mg/kg Ergotamin sicher beeinflußt, während ein durch Dauerinfusion von Nor-Adrenalin hervorgerufener Hochdruck durch diese Dosierungen nur unsicher oder gar nicht gedämpft wird.

3. Die depressorische Wirkung von Isopropyl-Nor-Adrenalin wurde in unseren Versuchen durch geringe Ergotamindosierungen (0,05 bis 0,1 mg/kg) in der Mehrzahl der Versuche verstärkt, für die von anderen Autoren festgestellte Hemmung der depressorischen Wirkung von Isopropyl-Nor-Adrenalin benötigten wir höhere Dosierungen.

4. Hydergin schwächt in Dosierungen von 0,02—0,1 mg/kg regelmäßig die pressorische Wirkung der CSE ab; die Wirkung von Adrenalin wird in gleichem Maße gedämpft oder auch umgekehrt.

Der Effekt von Nor-Adrenalin wird in der Regel mäßig abgeschwächt, gelegentlich auch mäßig gesteigert.

5. Die depressorische Wirkung von Isopropyl-Nor-Adrenalin wird durch Hydergin in den angegebenen Dosierungen regelmäßig gesteigert.

Diese, sowie die in der Literatur berichteten Ergebnisse führen zu dem Schluß, daß die Wirkung des Ergotamins und der hydrierten Alkaloide der Ergotoxingruppe zum großen Teil auf einer zentralen Dämpfung Sympathicustonus und auf einer zentralen Unterbrechung der Reflexbahn der Pressoreceptoren beruhen muß.

Wir haben daraufhin versucht, die zentrale Wirkung von Ergotamin und Hydergin einem direkten Nachweis am gekreuzten Kreislauf zuzuführen. Die Versuche am gekreuzten Kreislauf wurden mit einer modifizierten Technik nach HEYMANS durchgeführt, wobei der kreislaufmäßig isolierte Kopf des Versuchshundes (Empfänger) nur über das Halsmark in Verbindung mit dem Rumpf blieb.

Die Versuche führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Ergotamin und Hydergin bewirkten bei Injektion von 0,05 bis 0,1 mg/kg (bezogen auf das Körpergewicht des Spenders) in die A. carotis des gekreuzten Kreislaufes im Körperkreislauf des Versuchshundes (Empfänger) eine Blutdrucksenkung; diese Blutdrucksenkung trat auch nach Denervierung des Carotis-Sinus ein.

Im Kreislauf des Spenders kam es nach Ergotamin zu einer Blutdrucksteigerung; Hydergin zeitigte wechselnde Effekte.

2. Nach der Applikation von Ergotamin oder Hydergin in die A. carotis waren die reflektorischen Gegenregulationen gegen Blutdrucksteigerung und Blutdrucksenkung, die am Körperkreislauf des Versuchs-

hundes registriert wurden, abgeschwächt oder ausgelöscht. Die nach Drucksteigerung am Carotis-Sinus registrierte Blutdrucksenkung im Körperkreislauf wurde bereits durch geringere Dosierungen von Ergotamin und Hydergin gehemmt, als die auf Drucksenkung am Carotis-Sinus erfolgende Blutdrucksteigerung im Körperkreislauf.

3. Dosierungen von Ergotamin und Hydergin, die zu einer Dämpfung der pressoreceptorischen Kreislaufreflexe führen, schwächten auch die pressorische Wirkung einer zentripetalen Vagusreizung oder kehrten sie um, vorausgesetzt, daß nur mäßig überschwellige Reize für kurze Zeit (10 sec) eingesetzt wurden.

4. Im Körperkreislauf des Versuchshundes (Empfänger), der auf intravenöse Injektion gefäßwirksamer Stoffe praktisch wie ein dekapiertes Tier reagiert, führten sowohl Ergotamin wie auch Hydergin zu einer Blutdrucksteigerung. Nach Injektion der Alkaloide in den Körperkreislauf des Versuchshundes waren die Gegenregulationen auf Drucksteigerung und Drucksenkung am Carotis-Sinus nur mäßig abgeschwächt.

Durch die angeführten Versuchsergebnisse ist bewiesen, daß Ergotamin und Hydergin zu einer Dämpfung des zentralen Sympathicustonus führen und mit zentralem Angriffspunkt die Reflexbahn der Pressoreceptoren unterbrechen. Die Tatsache, daß die Gegenregulation gegen Blutdrucksteigerung frühzeitig gehemmt wird, gibt eine Erklärung für die im Tierexperiment beobachtete Sensibilisierung der pressorischen Wirkung von Nor-Adrenalin und Adrenalin durch kleine Dosen von Ergotamin.

R. TAUGNER (Heidelberg): Über die Wirkung von Nicotin auf das Rückenmark*.

Schwellendosen von 50—250 γ Nicotin/kg führen bei decerebrierten Katzen zur Verbesserung von homolateralem Beuge- und contralateralem Streckreflex. Der Patellarsehnenreflex wird durch die nämlichen Nicotindosen abgeschwächt bzw. unterdrückt.

Sowohl an Flexor- und Extensorreflex als auch am Patellarsehnenreflex wurde ein Antagonismus zwischen Nicotin und Interneuronengiften beobachtet.

Zur Erklärung dieser Befunde wird angenommen, daß Nicotin in Schwellendosen vor allem zur Erregung von Interneuronen führt. Die Lähmung des Patellarsehnenreflexes durch Nicotin könnte unter anderem durch Erregung übergeordneter Interneuronen verursacht sein, welche eine hemmende Wirkung auf diesen Reflex entfalten.

* Ausführliche Publikation in Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 220, 423 (1953).

G. KRONEBERG (Mannheim-Waldhof): Die Spezifität der Antinicotinwirkung verschiedener Pharmaka am Meerschweinchendarm.

In Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-6} erhält man mit Nicotin am isolierten Meerschweinchencolon eine Kontraktur, die man wiederholt reproduzieren und mit der Wirkung von Histamin und Doryl quantitativ vergleichen kann. Die Wirkung äquivalenter Dosen läßt sich durch vorherige Zugabe einer Hemmsubstanz reduzieren, wobei die für Nicotin, Doryl oder Histamin benötigte Hemmdosis in ganz verschiedenen Größenordnungen liegen kann. Während man z. B. vom *Morphin* für die 50%ige Hemmung der Nicotinwirkung nur etwa 20 γ benötigt, sind für die gleiche Hemmung äquivalenter Doryl- und Histamindosen über 20 mg, d. h. etwa 1000mal mehr Morphin notwendig. Das Hemmungsverhältnis ist in diesem Fall etwa wie 1:1000. Aus dieser Verhältniszahl läßt sich somit die *relative Antinicotinspezifität* einer Substanz ablesen.

Unter den zentralen Analgetica besitzen Dromoran und Morphin eine sehr hohe Antinicotinspezifität. Der Abstand zwischen nicotinhemmender und doryl- bzw. histaminhemmender Dosis beträgt mehr als 3 Zehnerpotenzen. Beim Polamidon ist das Verhältnis 1:100. Während auch Codein eine bevorzugte Antinicotinwirkung besitzt, wird sie beim Dolantin gänzlich vermißt. — Von den *Ganglienblockern* haben Hexamethonium und Pendiomid mit einem Hemmungsverhältnis von 1:600 bis 1:1000 eine größere Antinicotinspezifität als *Tetraäthylammonium* mit 1:100. — Unter den *Sympathicolytica* hat Yomhimbin die stärkste Antinicotinwirkung. Zur Hemmung der Nicotin-Kontraktur braucht man 30—60mal weniger Yohimbin als für Doryl und 15mal weniger als für Histamin. Eine sympathicolytische Alkaloidfraktion aus *Rauwolfia serpentina*, die keine der bisher bekannten *Rauwolfia*-Alkaloide enthält, wirkt gegen Nicotin 7mal stärker als gegen Doryl und Histamin. Bei dem sympathicolytischen Alkaloid Raupin (BODENDORF u. Mitarb.) ist diese Wirkung ebenso wie beim Regitin schwächer ausgeprägt. Die Sekalealkaloide Ergotamin, Dihydroergotamin und Hydergin wirken allen drei Substanzen gegenüber gleichstark. — Auch zwischen den beiden *Isomeren des Atropins* besteht ein bemerkenswerter Unterschied: d-Hyoscyamin reduziert entsprechend seiner bekannten schwächeren parasympathicolytischen Wirkung die Doryl-Kontraktion erst in 20fach höherer Konzentration als l-Hyoscyamin. Gegenüber Nicotin jedoch ist d-Hyoscyamin ebenso wirksam wie l-Hyoscyamin. Die Antinicotinspezifität des d-Hyoscyamins ist relativ gesehen größer als die des l-Isomeren.

Die Untersuchungen sollten zeigen, wie man bei verschiedenen Pharmaka der gleichen Gruppe zwischen einer Wirkungskomponente differenzieren kann, die einen Einfluß auf die ganglionäre Erregbarkeit ausübt.

Wenn man die Antinicotinspezifität zur *pharmakologischen Charakterisierung* einer Substanz heranzieht, gewinnt man eventuell in ähnlicher Weise, wie es SCHAUMANN am Beispiel des Peristaltikreflexes für die zentralen Analgetica gezeigt hat, weitere experimentelle Grundlagen für die Deutung zentralnervöser Wirkungen.

Literatur.

BODENDORF, K., H. EDER, J. D. ACHELIS u. G. KRONEBERG: *Naturwissenschaften* **40**, 342 (1953). — SCHAUMANN, O., u. Mitarb.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **215**, 460 (1952).

Diskussion. RUMMEL: Eine parallele Prüfung von Barium an Stelle von Nicotin könnte die Entscheidung erleichtern, ob im Sinne von FELDBERG eine ganglionäre Wirkung dem Geschehen zugrunde liegt oder nicht.

GREEFF (Frankfurt/M): Wenn man unter Nicotinwirkung am Darm nur die nach kleinen Dosen auftretende ganglionäre Erregungswirkung versteht, so gibt es nur eine Anti-Nicotinwirkung; nämlich die, welche diese „ganglionäre“ Nicotinerregung verhindert. Ein Stoff, der eine muskuläre Erregungswirkung verhindert, gleichgültig, ob diese durch hohe Nicotindosen oder z. B. durch Histamin verursacht ist, hätte, streng genommen, weder eine spezifische noch eine unspezifische Antinicotinwirkung, sondern wäre ein muskuläres Spasmodicum.

Schlußwort. KRONEBERG: Zur Anfrage RUMMEL: Wir hatten unsere Versuche absichtlich nicht auf Bariumchlorid ausgedehnt, da dessen Wirkungsmechanismus am MAGNUS-Darm gegenwärtig umstritten ist. Unsere Fragestellung betraf vor allem die *pharmakologische Charakterisierung* von Substanzen, die an verschiedenen Stellen des Nervensystems angreifen. Um die Spezifität der Antinicotinwirkung hervorzuheben, müssen Vergleichssubstanzen ausgewählt werden, bei denen der Angriffspunkt einigermaßen sicher ist. Umgekehrt wäre es natürlich durchaus interessant, mit Hilfe unserer Methode das Verhalten des Bariumchlorids zu untersuchen. Man könnte dann sehen, ob die Hemmung der Bariumchlorid-Kontraktur sich mehr wie die des Nicotins oder die des Histamins verhielte.

Zur Anfrage GREEFF: Wie ich in meinen Ausführungen betont habe, läßt sich in unserer Versuchsanordnung nur die *bevorzugte* Antinicotinwirkung einer Substanz erkennen. Sobald das Hemmungsverhältnis Nicotin:Doryl:Histamin wie 1:1 ist, läßt sich natürlich nicht aussagen, ob überhaupt eine an den Ganglien angreifende nicotininhibitorische Wirkungskomponente vorliegt, da eine ausschließlich muskuläre Hemmsubstanz infolge ihres peripherer gelegenen Angriffs am Erfolgsorgan auch die ganglionär bedingte Nicotinkontraktion hemmt.

W. SCHMID und M. SIESS (Tübingen): Über Kontrakturbedingungen des isolierten Warmblüterzwerchfells und -vorhofs.

Leerdurchströmungen von normaler bicarbonathaltiger Tyrodelösung mit CO_2 -freiem O_2 oder N_2 führen rasch durch Austreibung von CO_2 zu einer Verschiebung des pH von 7,4 auf 9,5 und darüber. Läßt man bei Glucosezusatz und O_2 -Durchperlung Zwerchfelle oder Herzvorhöfe von Mäusen und Meerschweinchen arbeiten, so stellt sich durch Säurebildung

der Muskeln aus Glucose die Nährlösung nur auf ein p_H von 8,4—8,7 ein. Zwerchfelle bilden dabei vorzugsweise Milchsäure, Herzvorhöfe nur CO_2 . Bei Glucosemangel wird nach Verbrauch des Muskelglykogens keine Säure gebildet, es kommt zur Alkalisierung der Tyrodelösung bis p_H 9,0 und darüber. Die bei diesem p_H eintretende sogenannte *Glucosemangelkontraktur* ist also eine Alkalikontraktur. In phosphatgepufferter, bicarbonatfreier und glucosefreier Tyrodelösung von p_H 7,2 unterbleibt diese. Hier wird nur noch der negativ inotrope Effekt als Energiemangel bemerkbar, der im Erschlaffungszustand endigt und durch rechtzeitige Zugabe von Glucose zu beheben ist. — Die *Erstickungskontraktur* in glucosefreiem Milieu ist im Bereich von p_H 6,8—8,5 vom p_H der Außenlösung unabhängig. Sie wird nicht durch Milchsäurebildung hervorgerufen, wie eine vorausgehende Jodacetatblockierung zeigt. In glucosehaltiger Lösung wird die Erstickungskontraktur durch zunehmenden Bicarbonatgehalt abgeschwächt, wobei reichlichst Milchsäure nach außen tritt. Diese führt in nicht gepufferter Tyrode von p_H 7,0 zur Säuerung bis p_H 6,3 und dadurch zur folgenden Säurekontraktur. — Die *Jodacetatkontraktur* ist ebenfalls vom p_H der Außenlösung (p_H 6,8—8,7) unabhängig. Sie wird aber durch Metaboliten hinter der Blockadestelle wie Pyruvat und Lactat vorübergehend gelöst, wobei die Kontraktionsleistung verbessert wird. Glucosezufuhr verstärkt dagegen die Kontraktur. Wahrscheinlich spielt dabei Dioxyceton, das in glucosefreier Lösung kontrakturfördernd wirkt, eine Rolle. — Die *Digitaliskontraktur* wird am Meerschweinchenherzvorhof im Unterschied zum Froschherz bei p_H 6,6—7,0 verhindert bzw. die kontrakturierende Grenzdosis stark nach oben verschoben. Kaliummangel ab $\frac{1}{3}$ der normalen Tyrodelösung fördert die Kontraktur, Calciumüberschuß erst vom 4fachen Gehalt an. Calciummangel bis $\frac{1}{3}$ erwies sich am günstigsten, um wiederholbare positiv inotrope Wirkungen am selben Präparat ohne Kontrakturbildung zu erzeugen.

Diskussion. REITER: Ihre Beobachtung, daß die für das Froschherz wesentliche Beziehung von $[Ca^{++}]$ zu $[K^+]$ für das Warmblütermycard in weitem Rahmen keine Bedeutung hat, stimmt überein mit den Ergebnissen von TAYLOR und SALTER¹. Hinsichtlich Ihrer am Meerschweinchenvorhof beobachteten Beeinflussung der Strophanthinwirkung durch die Ca-Konzentration möchte ich Sie fragen, inwieweit Sie darin Abweichungen von den alten LOEWISCHEN Befunden sehen. Mit der Annahme von Stoffwechselsteigerungen als Ursache einer inotropen Wirkung muß man meines Erachtens zurückhaltend sein, nachdem, wie ich vor einem Jahr hier zeigen konnte, in vitro beobachtete Stoffwechselsteigerungen durch Herzglykoside nicht mit ihrer inotropen Wirkung parallel gehen.

Schlußwort. SIESS: Abweichungen zu den Befunden LOEWIS liegen nach unseren Versuchen nicht vor. Wir möchten aber mit der Definition „Ca-Sensibilisierung“ vorsichtig sein. Stoffwechseluntersuchungen haben wir nicht ausgeführt.

¹ TAYLOR and SALTER: Fed. Proceed 1952.

D. LORENZ (Brackwede): Zur Bestimmung der therapeutischen Breite im Tierversuch.

Zur pharmakologischen Charakterisierung von Arzneimitteln genügt nicht allein die Angabe der Wirkungsstärke, die bestimmte Dosen im Tierexperiment besitzen, sondern es muß auch das Verhältnis zwischen den im Experiment gefundenen „curativen“ („effektiven“) Dosen und den toxischen Dosen, also die therapeutische Breite, bekannt sein.

Die entsprechenden Maßzahlen wurden hierzu häufig an unterschiedlichen Tierarten gewonnen oder gar der Literatur entnommen. Derartige Angaben besitzen nur einen beschränkten Wert. Zum Wirkungsvergleich gleichartiger Pharmaka untereinander sind sie ungeeignet. Curative und letale Werte sollten stets unter möglichst gleichen Bedingungen am gleichen Tiermaterial gewonnen werden.

Die Beziehung DL_0/DC_{100} (EHRlich) ist grundsätzlich richtig, in dieser Form jedoch nicht exakt bestimmbar, da hierzu ein zu großes Tiermaterial erforderlich wäre. Der Quotient DL_{50}/DC_{50} ist nur mit Einschränkung anwendbar; Voraussetzung hierzu ist, daß die letalen und curativen Wirkungskurven der zu vergleichenden Substanzen zueinander parallel verlaufen. Weiterhin ist zu beachten, daß eine mit Hilfe der D_{50} -Werte ermittelte therapeutische Breite eine erhöhte Verträglichkeit vortäuscht, da die D_{50} -Werte in jedem Falle weiter voneinander entfernt sind als die DL_0 und die DC_{100} . Dagegen hat sich uns der Quotient DL_5/DC_{95} (BROCK¹) bewährt, der angibt, um wieviel die der letalen Wirkungswahrscheinlichkeit von 5% entsprechende Dosis größer ist als die der therapeutischen Wirkungswahrscheinlichkeit von 95% entsprechende Dosis. Der so definierte „therapeutische Index“ ist mit Hilfe statistischer Methoden weitgehend exakt zu ermitteln und seine Fehlerbreite genau festzulegen. Eine weitere Charakterisierung der therapeutischen Breite ist mit Hilfe des Gefahrenquotienten möglich. Dieser Wert gibt an, mit wieviel Prozent Wahrscheinlichkeit einer toxischen Wirkung die in 95% therapeutisch wirksame Dosis DC_{95} belastet ist [„Gefahrenquotient“ (G)].

Die Beurteilung der letalen Wirkung eines Pharmakons erfolgt in der Regel mit Hilfe des alternativen Kriteriums „tot — überleben“ in Form einer alternativen Dosis-Wirkungskurve, die bei Verwendung reinen Tiermaterials im Wahrscheinlichkeitsnetz über logarithmisch eingeteilter Dosenabszisse eine Gerade ergibt. Folglich hat zur Ermittlung des therapeutischen Index die Bestimmung der „effektiven“ oder „curativen“ Wirkung ebenfalls mit Hilfe alternativer Kriterien zu erfolgen. Der Umwandlung quantitativer in alternative Kriterien haftet eine gewisse Problematik an; sie kann nur unter bestimmten Voraussetzungen geschehen (BROCK²). Grundsätzlich erfordert sie den Einsatz eines

umfangreichen Tiermaterials, häufig auch die Ausarbeitung neuer Testmethoden.

Natürlich erlaubt die Kenntnis des therapeutischen Index und Gefahrenquotienten, wie ja auch von anderen experimentell ermittelten pharmakologischen Maßzahlen, keine direkte Übertragung auf die Verhältnisse beim Menschen. Ein niederer Index läßt also keineswegs ohne weiteres den Schluß zu, daß die therapeutische Breite beim Menschen genau so gering sei. Therapeutischer Index und Gefahrenquotient dienen vielmehr in erster Linie zum quantitativen Vergleich von gleichartig wirkenden Substanzen untereinander und insbesondere zum Vergleich von Substanzen homologer Reihen bei Fragestellungen über chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung.

Im folgenden soll an Hand einiger Beispiele gezeigt werden, daß auf den verschiedensten Gebieten der experimentellen Pharmakologie eine Bestimmung des „therapeutischen Index“ und des „Gefahrenquotienten“ in der vorgeschlagenen Form möglich ist.

1. Beispiel.

Effektive (narkotische) und letale Wirkungsgerade eines Schlafmittels (N-Methyl-cyclohexenyl-methyl-barbitursaures Natrium) an der weißen Maus.

2. Beispiel.

Effektive (spasmolytische) und letale Wirkungsgerade eines Spasmodikums (Papaverin) am Meerschweinchen.

3. Beispiel.

Curative (vermicide) und letale Wirkungsgerade eines Wurmmittels (Kristallviolett) am Kaninchen.

4. Beispiel.

a) Effektive (histaminolytische) und letale Wirkungsgerade eines Antihistaminikums (Dimethylaminoäthyl-benzhydryläther) am Meerschweinchen.

b) Ermittlung des therapeutischen Index verschiedener homologer Benzhydryläther.

5. Beispiel.

Effektive (stoffwechselsenkende) und letale Wirkungsgeraden einer antithyreoidalen Substanz (Methylmercaptoimidazol) an der Ratte.

Literatur.

BROCK, N., u. F. J. GEKS: Arzneimittel-Forsch. **1**, 63 (1951). — Naturwissenschaften **38**, 351 (1951). — BROCK, N., F. J. GEKS u. D. LORENZ: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 492 (1952). — EHRLICH, P.: Z. Immun.forsch. Ref. **1910**, 1123.

Diskussion. FÖRSTER: Hinweis, daß außer bei Verwendung sehr großer Tierzahlen die Bestimmung der LD_{95} und ED_5 sehr viel ungenauer sein muß, als die der 50%-Werte. Deshalb möchten wir dem Quotienten $\frac{LD_{50}}{ED_{50}}$ im allgemeinen den Vorzug geben.

OETTEL (Ludwigshafen): Falls die Bezeichnung „therapeutischer Index“ überhaupt benutzt wird, sollte sie stets in Anführungszeichen gesetzt werden, damit sie den Kliniker nicht zu Trugschlüssen bezüglich der therapeutischen Einsetzbarkeit der betreffenden Substanzen beim Menschen verleitet. Wichtiger für die klinische Verwendbarkeit einer Substanz ist nicht die Frage, welche Dosis eine bestimmte Zahl von Individuen in kurzer Zeit umbringt (24 Std — LD_{50} !), sondern, ob die zur Therapie notwendige Dosis irgendwelche Schädigungen setzt. Hinweis auf die häufig vorkommenden großen Unterschiede der Toxizität für Tier und Mensch an Hand von Beispielen (relative Ungiftigkeit von Atropin bei Mäusen; Massenvergiftung mit Diäthylenglykol, das wegen seiner geringen Toxizität im Rattenversuch als Lösungsmittel für Sulfonamide benutzt wurde). Der Abstand der tödlichen von der effektiven Dosis erlaubt höchstens dann innerhalb von homologen Reihen gewisse Rückschlüsse auf den Menschen, wenn eine Substanz der Reihe in ihrer Wirkung am Menschen gut bekannt ist (Standardsubstanz!).

BROCK: Die erörterten Begriffe der therapeutischen Breite dienen einerseits der Klärung der Beziehung zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung, andererseits stellen sie ein anschauliches Maß dar, auf Grund dessen es dem Arzt möglich ist, sich ein eigenes Urteil über verschiedene Substanzen gleichen Anwendungsbereichs zu bilden.

Schlußwort. LORENZ: Selbstverständlich müssen bei Bestimmung der DL_5 und DC_{95} zur Erzielung der gleichen Genauigkeit größere Tierzahlen verwendet werden als bei Bestimmung der D_{50} -Werte. Bei interessierenden Substanzen lohnt sich unserer Erfahrung nach der Einsatz höherer Tierzahlen, denn der D_{50} -Index ist aus den erwähnten Gründen nur mit Einschränkung zu verwenden.

R. GÖSSWALD (Köln): Über eine ultraviolett-spektrophotometrische Bestimmungsmethode von PAS in Blutserum und Harn.

Neben Isonicotinsäurehydrazid und den Antibiotika behauptet PAS seine Stellung als Tuberkulostatikum zur Behandlung der exsudativen Stadien der Tuberkulose, zur Operationsvorbereitung und zur Kombinationstherapie. Die individuelle Schwankungsbreite der Blutkonzentration und der Harnausscheidung setzt die Kenntnis dieser Größen für eine sinnvolle PAS-Therapie voraus. Unter anderem haben MADIGAN und GRIFFITHS nach konstanter Dosierung bei verschiedenen Patienten Differenzen des maximalen Serumspiegels über 100% beobachtet. Die Methoden der PAS-Bestimmung beruhen teils auf hydrolytischer Spaltung, Dekarboxylierung, Kupplung und Diazotierung zu Farbreaktionen, teils auf argentimetrischen, bromometrischen oder potentiometrischen Titrationen. Allen Methoden haften mehr oder weniger große Fehlerquellen an; die Mehrzahl der Methoden erfordert umfangreiche chemische Vorarbeiten, die mitunter mehrere Stunden in Anspruch nehmen.

Ultraviolett-spektrogramme dienen in steigendem Maße als Identitätsmerkmale von chemischen Substanzen; qualitative und quantitative Bestimmungen lassen sich ohne chemische Veränderung der Substanz durchführen. Das UV-Spektrum von PAS zeigt in Phosphatpuffer nach NNR 1952 Maxima bei 265 und 299 $m\mu$, Minima bei 244 und 285 $m\mu$. Die molare Extinktion beträgt 748, das Verhältnis der Maxima zueinander ist 1,5—1,56. Bestimmt man das UV-Spektrum von PAS in Konzentrationen von 0,25, 0,5 und 1 $mg\%$, und trägt die Konzentrationen gegen die optische Dichte der Maxima in ein Ordinatensystem ein, so erhält man eine Gerade als Eichkurve, die also in diesem Konzentrationsbereich dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz gehorcht. Die direkte Bestimmung von PAS im Serum ist durch das Eigenspektrum der Eiweißkörper, das vorwiegend durch aromatische Aminosäuren bedingt ist, unmöglich. Durch Alkohol-fällung gelingt es, das störende Maximum bei 280 $m\mu$ auf ein so niedriges Niveau zu reduzieren, daß PAS quantitativ bestimmt werden kann, wenn man ein entsprechend behandeltes PAS-freies Serum als Leerwert benutzt.

1 ml Serum wird mit physiologischer Kochsalzlösung auf 6,25 ml verdünnt, 1 ml dieser Lösung mit 3 ml 96%igem Alkohol gefällt und nach 5 min 5 min lang mit 3000 U/min zentrifugiert. Die farblose, wasserklare Lösung wird im Quarzspektrophotometer nach BECKMAN bei 265 $m\mu$ gegen den Leerwert gemessen. Die Konzentration in $mg\%$ ergibt sich aus der Multiplikation des Eichkurvenwertes mit dem Verdünnungsfaktor (25). Für den Harn spielt die Wasserstoffionenkonzentration eine besondere Rolle, da das UV-Spektrum durch pH -Differenzen beeinflusst wird. Urin wird daher mit Phosphatpuffer nach NNR 1952 1:1000 verdünnt und gegen einen ebenso verdünnten Leerwert photometriert. Die PAS-Konzentration im Harn in Gramm ergibt sich aus der Multiplikation des Eichkurvenwertes mit dem Verdünnungsfaktor (1000) und der Harnmenge in Kubikzentimeter dividiert durch 100.

In 15 min lassen sich auf diese Weise etwa 10 Bestimmungen durchführen. Die Fehlerbreite der Methode entspricht der des BECKMAN-photometers mit 0,1—0,3% der O. D. Zugesezte PAS-Mengen zu Serum oder Harn werden quantitativ wiedergefunden. Die Empfindlichkeitsgrenze der Methode liegt bei 1 $mg\%$. Wir haben wie DICKENSON und KELLY sowie TARNOKY und BREWS Gesamt-PAS bestimmt. Das UV-Spektrum von Acetyl-PAS unterscheidet sich nur unerheblich im Absorptionsmaximum bei 265 $m\mu$ von PAS, so daß die angegebene Methode hinreichend genau ist, um eine Grundlage für eine rationelle Therapie zu geben.

Als Beispiel wird der Serumspiegel von Patienten sowie die Harnausscheidung nach peroraler und Infusionstherapie aufgezeigt. Die gleiche Methode läßt sich zur Bestimmung von PAS-Glykosid in Serum

und Harn anwenden. Das UV-Spektrum von PAS-Glykosid ist etwas in einen langwelligeren Bereich verschoben, die Eichkurve ist auch hier linear. CACCIAVILLANI wies 1950 darauf hin, daß PAS-Glykosid bei geringerer Toxizität länger im Organismus verweilt als PAS. FINKELDEY berichtete 1950, daß bei gleichzeitiger peroraler Zufuhr von Traubenzucker PAS langsamer resorbiert und ausgeschieden wird. Die tuberkulostatische Wirksamkeit von PAS und PAS-Glykosid-Na liegt nach HABERLAND in der gleichen Größenordnung. Wir haben vorerst bei einer nur geringen Zahl von Patienten den Effekt von PAS und PAS-Glykosid auf Blutspiegel und Harnausscheidung untersucht. Bezeichnet man mit BOGEN und DYE die therapeutische PAS-Konzentration als etwa 5 mg%, so gewinnt man aus diesen Versuchen den Eindruck, daß dieser Spiegel bei Glykosid-Dauertropfinfusion länger aufrechterhalten wird als bei entsprechender PAS-Behandlung. Ebenso erscheint die Ausscheidung von PAS-Glykosid gegenüber PAS verlangsamt.

Durch diese einfache UV-spektrophotometrische Methode ist es in wenigen Minuten möglich, sich einen Überblick über die Resorptions- und Ausscheidungsverhältnisse eines Patienten zu verschaffen und damit die Basis für eine rationelle Therapie zu gewinnen.

Diskussion. STÜRMER (Berlin): Nicotin hat ein Absorptionsmaximum bei 258 m μ und es wäre eventuell zu bedenken, daß die PAS-Bestimmungen bei starken Rauchern verändert werden könnten.

Schlußantwort. GÖSSWALD: Bekanntlich erfaßt die UV-Spektrophotometrie in der Regel Konzentrationen in der Größenordnung von 0,1—2 mg%. Aus diesem Grunde wurden auch für unsere Bestimmungsmethode Serumverdünnungen von 1:25, Harnverdünnungen von 1:1000 gewählt. Unter diesen Bedingungen können Spuren von Nicotin im Serum oder Harn unter keinen Umständen die PAS-Bestimmung beeinflussen, zumal sich die aufgenommenen Nicotinkonzentrationen, selbst bei starken Rauchern, zu den PAS-Gaben höchstens wie 1:1000 verhalten. Berücksichtigt man noch die unterschiedlichen Resorptionsverhältnisse, so ergibt sich eine noch größere Konzentrationsdifferenz.

K. REPKE und F. MARKWARDT (Greifswald): Untersuchungen über physiologische Aktivierung des weiblichen Keimdrüsenhormons.

Die Reduktion von Östron zu β -Östradiol* hat physiologische Bedeutung, denn β -Östradiol ist etwa 6 mal stärker östrogen wirksam als Östron. Durch Bilanzversuche ist sichergestellt, daß der Säugerorganismus die, im folgenden als Aktivierung bezeichnete, Reduktion von Östron zu β -Östradiol zustandebringen kann. Bisher herrscht jedoch keine Übereinstimmung darüber, welche Gewebe an der Aktivierung beteiligt sind und vor allem bleibt auch die Frage offen, welcher physiologisch-chemische Mechanismus ihr zugrunde liegt. — Wir haben nach Untersuchungen in

* Nach der Nomenklatur von L. F. u. M. FIESER.

verschiedenen Richtungen gefunden, daß Östron in vitro bei Bebrütung mit roten Blutzellen vom Meerschweinchen, Kaninchen und auch vom Menschen quantitativ zu β -Östradiol reduziert wird, beurteilt nach der Auswertung im ALLEN-DOISY-Test. Bei der genaueren Untersuchung dieser Beobachtung stellten wir fest, daß die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase den Wasserstoff für die Aktivierung liefert. Z. B. fanden wir in einem Ansatz, der aus einem nach der ursprünglichen WARBURGSchen Vorschrift dargestellten Fermentpräparat von Meerschweinchen-Erythrocyten, Triphosphopyridinnucleotid und Glucose-6-phosphat bestand, eine fast quantitative Umwandlung von Östron zu β -Östradiol bei der Auswertung im ALLEN-DOISY-Test. Die wasserstoffübertragenden Fermente der Glykolyse, die Triosephosphat- und die Lactico-Dehydrogenase, und Sulfhydrilkörper (Cystein) spielen bei dem untersuchten Vorgang keine Rolle. — Die Ergebnisse legen die Schlußfolgerung nahe, daß die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase an der physiologischen Aktivierung des weiblichen Keimdrüsenhormons zumindest beteiligt ist.

Diskussion. LOESER (Münster): Fragt nach der Art der verwendeten Lösungsmittel.

REPKE antwortet: Als Lösungsmittel für Oestron wurde absoluter Alkohol verwandt. Zu 3—5 cm³ Erythrocytenbrei bzw. Fermentlösung wurden 0,1 ml mit 50 γ Oestron gegeben. Diese Alkoholkonzentration ruft keine Hämolyse hervor und beeinträchtigt die Fermentaktivität nach Kontrollversuchen in der WARBURG-Apparatur nicht.

W. KUNZ (Tübingen): Pharmakologische Vergleichsversuche an Sterinderivaten.

Mit 1 Textabbildung.

Stoffwechsel und Kontraktilität des Mäuseuterus werden bei Applikation am Ganztier durch Östradiol gesteigert und durch Progesteron gesenkt. Bei in-vitro-Zusatz zum isolierten Organ dagegen wirken beide Hormone in Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-5} aufwärts in gleicher Weise hemmend. Die weitere Untersuchung dieser Befunde ergab, daß es sich bei den beobachteten in-vitro-Effekten nicht um spezifische, den physiologischen Leistungen zuzuordnende Wirkungen der weiblichen Sexualhormone auf ihr Erfolgsorgan handelt. Wie beim Uterus wurden Atmung und Glykolyse auch bei extragenitalen Geweben gehemmt. Ebenso fand sich eine Verminderung der Kontraktionsleistung bei anderen glattemuskulären Organen, beim Vorhof und beim direkt gereizten Zwerchfell. In qualitativ gleicher Weise wie Östradiol und Progesteron wirkten Steroide mit androgener, östrogenen und NNR-Wirksamkeit, sowie einige biologisch inaktive Derivate. Ein an der Hemmung von anaerober Glykolyse und Kontraktion des Mäusediaphragma durch-

geführter quantitativer Vergleich zeigte, daß kein Zusammenhang zwischen der hier gefundenen Wirksamkeit und der spezifischen hormonalen Aktivität bzw. der biologischen Wirkungsstärke der Derivate

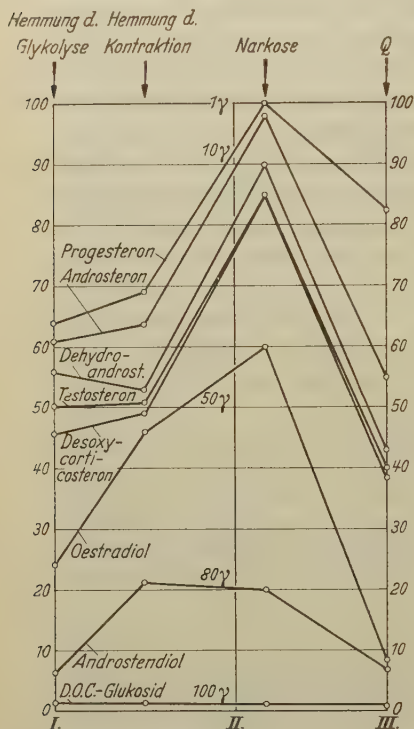


Abb. 1.

Ordinate I: Hemmung von anaerober Glykolyse und Kontraktion des Mäusediaphragma in Prozent der Leerwerte. Ordinate II: Narkotische Grenzkonzentration in γ/cm^3 . Ordinate III: Verteilungsquotient Petroläther/Wasser.

besteht. Eine deutliche Beziehung fand sich dagegen zu ihrer narkotischen Wirksamkeit auf Kaulquappen und Goldfische. Die Bestimmung der Verteilungsquotienten der Derivate zwischen Petroläther und Wasser ergab, daß die bei diesen Versuchen aufgestellte Aktivitätsreihe weitgehend mit der Anreicherungsfähigkeit im Lipoid zusammenfällt. Eine Ausnahme machten nur die Ester Östradiolbenzoat, Desoxycorticosteronacetat und Dehydroandrosteronacetat, die trotz hoher Verteilungsquotienten nur wenig wirksam waren. Die Ergebnisse zeigen, daß die Steroide in Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-5} aufwärts gemeinsame Gruppenwirkungen besitzen, die in keiner Beziehung zu ihren spezifischen hormonalen Wirkungen stehen. Bei in-vitro-Versuchen mit Steroidhormonen müssen diese unspezifischen Wirkungen berücksichtigt werden.

Diskussion. LOESER (Münster): Bedenken, daß es sich bei den beobachteten Wirkungen um unspezifische Lösungsmittelleffekte handelt.

GRUPP (Freiburg/Br.): Lassen sich die Stilbene, die die Sexual-steroidwirkung so

gut nachmachen können, ebenfalls in die vorgetragenen Befunde einordnen.

Schlußwort. KUNZ: Die Alkoholkonzentrationen betrugen maximal 0,5%. Durch Leerversuche wurde die Unwirksamkeit des Lösungsmittelzusatzes gesichert. Wäßrige, durch Ultrabeschallung hergestellte Hormonsuspensionen hatten außerdem die gleiche Wirkung wie die alkoholischen Lösungen.

Untersuchungen mit Stilbenen wurden nicht durchgeführt.

GÜNTER HOFFMANN (Freiburg i.Br.): Über die Herzmuskelwirkung der Nebennierenrindenhormone.

Ausgehend von der heutigen Verwendung der Nebennierenrindenhormonen (N.N.R.-Hormone) in der Klinik, untersuchten wir, zum Teil

gemeinsam mit SCHÖNBACH, die Wirkung von Percorten und Cortison auf den Herzmuskel. Die Untersuchungen führten wir in der Methode nach STRAUB am Froschherz und in der Methode nach LANGENDORFF am Meerschweinchenherzen durch. Wir fanden Percorten am Froschherzen in einer Konzentration von 1×10^{-6} bis 5×10^{-6} beginnend wirksam, wobei anfänglich leicht positiv inotrope Wirkungen zutage traten, bei Dosiserhöhung aber negativ inotrope Wirkungen zu beobachten waren. Bei Konzentrationen $2 - 5 \times 10^{-4}$ standen die Herzen in Mittelstellung still, erholten sich jedoch nach RINGER-Spülung sehr schnell. Dieselben Wirkungen zeigten sich auch am Meerschweinchenherz, doch waren hier die positiv inotropen Wirkungen der Grenzdosen weniger stark ausgeprägt. Die Frequenz wurde öfter mäßig beschleunigt, desgleichen der Coronardurchfluß.

Unter Cortison fanden sich demgegenüber am Froschherzen wie am Meerschweinchenherzen wesentlich stärker ausgeprägte positiv inotrope Wirkungen (ab 1×10^{-5}), doch traten bei höheren Konzentrationen ($1 - 5 \times 10^{-4}$) am Froschherz ebenfalls negativ inotrope Wirkungen hervor. Am Meerschweinchenherz dagegen wurden schon wesentlich früher negativ inotrope Wirkungen deutlich (ab 4×10^{-5}), wobei gleichzeitig eine auffallende Verminderung des Coronardurchflusses auftrat, so daß die negativ inotrope Wirkung als Folge der Coronardrosselung anzusehen ist. Versuche am stillstehenden Meerschweinchenherz zeigten dann auch, daß diese Konzentrationen eine Coronarverengung hervorriefen. Desgleichen wurde auch dabei die Frequenz deutlich herabgemindert. Bei gleichzeitiger Gabe von Percorten und Cortison tritt dieser Coronarspasmus oft erst bei höheren Dosen von Cortison auf.

Zu diesen sofort einsetzenden Wirkungen, die nach RINGER-Spülung für kleine bis mittlere Gaben gut reversibel waren, kam noch eine über längere Zeit andauernde Stimulierung der Herzen hinzu. Nach 4—5 Std arbeiteten diese Herzen, wenn ihnen mehrmals kleine Dosen von Percorten und Cortison zugeführt wurden, nicht nur genau so gut wie zu Beginn des Versuches, sondern teilweise sogar noch besser, während sonst die Lebensfähigkeit dieser Präparate nach ungefähr 5 Std doch erheblich reduziert ist. Ferner prüften wir die Wirkung von Cortison auf den Acetylcholin- und Adrenalineffekt am Froschherzen. Dabei zeigte sich, daß Grenzdosen von Adrenalin unter Cortison nicht mehr wirksam waren und größere Gaben abgeschwächt wurden. Eine Sensibilisierung von Adrenalin wurde also nicht gefunden, lediglich das Auswaschen der positiv inotropen Wirkung von Cortison war etwas verzögert. Acetylcholin war gegen positiv inotrope Wirkungen von Cortison immer wirksam, wobei der Effekt häufig sogar etwas stärker erschien. Wurden so hohe Dosen von Cortison gegeben, daß dieses eine negativ inotrope

Wirkung zur Folge hatte, so war auch Acetylcholin nicht mehr wirksam. (Die oben angeführten Ergebnisse wurden durch entsprechende Abbildungen belegt.)

Diskussion. LENDLE: Die benötigten Konzentrationen sind so hoch, daß man kaum spezifische Stoffwechselwirkungen annehmen kann. Vielleicht handelt es sich um Membranwirkungen an „hypodynamen“ Herzen.

v. BRÜCKE: Bei der Schädigung des menschlichen Herzens durch Cortison (Dilatation) spielt sicher die Wasser- und Natriumretention eine weit größere Rolle als eine direkte Muskelwirkung.

PENDL (Heidenheim): Wenn die getrennte Bestimmung der 11-Desoxy- und 11-Oxycorticoide im Harn (PFEFFER, RUPPEL, STAUDINGER, WEISSBECKER 1952) einen gewissen Aufschluß über das Verhältnis von Mineralo- zu Glucocorticosteroiden im Organismus geben kann, sind folgende Untersuchungen an Herzkranken vielleicht von Interesse: Bei 10 Fällen von Herzinsuffizienz mit Ödem und Hypertonie ergab die Untersuchung des Urins im Laboratorium von Dozent H. J. STAUDINGER in Mannheim neben dem meist beobachteten Absinken der 17-Ketosteroide eine Verschiebung des Verhältnisses von 11-Desoxy- zu 11-Oxycorticoiden. Dieses beträgt normalerweise 1:4—5, änderte sich wegen Erniedrigung der 11-Oxyfraktion in der Richtung von Werten in der Größenordnung von 1:1,4:3. (Der letzte Wert wurde nur einmal erreicht.) Vielleicht lassen sich damit Ödemneigung und Blutdrucksteigerung solcher Herzkranker als Nebenwirkungen der überwiegenden „Mineralocorticoide“ erklären.

UEBEL (Köln-Merheim): Es erhebt sich umgekehrt die Frage, im Rahmen von Untersuchungen über die extrakardialen Wirkungen herzwirksamer Glykoside (LENDLE, v. METZLER, FR. E. KOCH und KNEIP), wieweit solche Stoffe über die Nebennierenrinde (NNR) sekundär am Myocard wirksam werden. Unter Berücksichtigung von Dosis und Zeit haben wir festgestellt, daß eine Schädigung der NNR bei Meerschweinchen am frühesten und stärksten mit Digitoxin zu erzielen ist (Zelldissoziation, Hämorrhagien bis zum Bild der Rindenapoplexie vom Typ der Diphtherietoxinschädigung), während auch nach hohen Dosen Convallatoxin als stärkste Schädigung nur kleinere Diapedesisblutungen auftreten.

Schlußwort. HOFFMANN:

1. Zur Frage der Membranwirkung ist zu sagen, daß nach VERZAR gerade die Glykocorticoide entscheidenden Einfluß auf den Kohlenhydratstoffwechsel nehmen. Die Dosierung von 50—300 mg in der Klinik würde Konzentrationen entsprechen, die zwischen $1 \text{ bis } 6 \cdot 10^{-6}$ minimal und $1 \text{ bis } 6 \cdot 10^{-5}$ maximal liegen. Dazu kommen in den ersten Tagen noch körpereigene Steroide.

2. Die Retention von Flüssigkeit und NaCl ist unter Percorten und Cortison wechselnd, so daß unter hohen Cortisongaben — besonders da sich dieses mit körpereigenen Steroiden summiert (siehe unter 1.) — eine direkte Beeinflussung des Herzmuskels wahrscheinlich ist.

3. Weitere Versuche zeigten, daß Cortison an Herzen in K-freier RINGER-Lösung wirksam ist, dagegen bei Verdopplung des normalen KCl-Gehaltes nicht. Doch ist die Frage der gegenseitigen Steuerung einzelner NNR-Steroide noch nicht geklärt.

4. v. METZLER fand Veränderungen der NN-Rinde unter Digitalis, doch sind die tieferen Beziehungen noch unklar. Eigene Versuche sind noch nicht abgeschlossen.

K. GREEFF und A. ENGELHARDT (Frankfurt a. M. und Rostock): Der Einfluß der Piqûre auf die hormonelle Zusammensetzung des Nebennierenmarks.

Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten bilden eine Ausnahme von der sonst geltenden Regel, daß an der hormonellen Zusammensetzung des Nebennierenmarks neben Adrenalin auch die noch nicht methylierte Vorstufe Arterenol (Noradrenalin) beteiligt ist. Es wurde untersucht, ob eine durch den Zuckerstich auslösbare langanhaltende Hormonausschüttung aus dem Nebennierenmark bei diesen Tierarten zum Auftreten von Arterenol führt. Bei Kaninchen und Meerschweinchen läßt sich trotz starker Hormonverarmung des Nebennierenmarks nach der Piqûre niemals Arterenol nachweisen, während bei Ratten der Verlust an Adrenalin eine gewisse Zeit durch Neubildung von Arterenol ausgeglichen wird. Vergleichsversuche, in denen die Hormonverarmung des Nebennierenmarks durch hohe Insulindosen ausgelöst wurde, führten zu prinzipiell gleichartigen Ergebnissen. Bei Mäusen hingegen nimmt der normalerweise etwa 25% betragende Arterenolgehalt des Nebennierenmarks so stark zu, daß zeitweise mehr Arterenol als Adrenalin vorhanden ist. Die Unterschiede bei den einzelnen Tierarten sind wahrscheinlich durch eine verschiedene Methylierungsfähigkeit ihrer Nebennieren bedingt.

R. ENGELHORN, K. GÖRTTLER, G. GRUPP und S. JANSSEN (Freiburg i. Br.): Durchblutungsveränderungen in der Niere.

Für die quantitative Messung von kurzfristig verlaufenden Durchblutungsveränderungen in der Niere ist die Thermostromuhr (ThU) ungeeignet, besonders dann, wenn die Durchblutungsgrößen zur Aufstellung von Bilanzen — z. B. der Wärmebilanz — herangezogen werden sollen. Die Voraussetzungen, die die ThU zur Lieferung übereinstimmender Werte an verschiedenen Versuchstagen verlangt, sind so mannigfaltig, daß selbst unter den Bedingungen einer Modelleichung nur ganz selten übereinstimmende Eichkurven gefunden werden können. Wir haben deswegen bei quantitativen Messungen auf die ThU verzichtet und ein modifiziertes BUBBLEFLOW-Meter (BFM) verwendet. Die aus der Vena renalis ausfließende Blutmenge wurde gemessen.

Es hat sich herausgestellt, daß beim BFM eine einfache Multiplikation der Blasenumlaufzeit mit dem BFM-Volumen, das durch die Markierungen festgelegt ist, nicht möglich ist. Wenn dies der Fall wäre, müßte die BFM-Eichkurve eine Steigung von 45° zeigen, tatsächlich verläuft sie flacher. Dies bedeutet, daß bei langsamer Geschwindigkeit ein zu kleines, bei schneller Geschwindigkeit ein zu großes Volumen angezeigt wird. Die Abweichungen betragen bei unserem BFM bei einer Durchblutungsgröße von 90 ml/min, die häufig gemessen wird, bereits 12%, falls das

BFM nicht geeicht wäre. Deswegen ist jedes BFM bei quantitativen Messungen zu eichen.

Bei der Carotis-Entlastung wird die Nierendurchblutung gleichzeitig mit der Blutdrucksteigerung regelmäßig um etwa 10% verbessert. Die Durchblutungsverbesserung kam bisher bei Messungen mit der ThU wegen ihrer geringen Empfindlichkeit nicht zum Ausdruck.

Adrenalin und Nor-Adrenalin wirken in gleicher Dosierung (1 γ /kg) auf die Nierendurchblutung verschieden. Trotz der wesentlich stärkeren Blutdrucksteigerung durch Nor-Adrenalin hemmt Adrenalin die Nierendurchblutung mehr als Nor-Adrenalin. Außerdem verbessert Nor-Adrenalin die Nierendurchblutung nach Abklingen der kurzen Durchblutungshemmung, Adrenalin nicht.

Die durch Adrenalin (0,15 mg/kg) verursachte Nierenrinden-Ischämie, die TRUETA u. Mitarb. am Kaninchen durch Röntgen-Kontrastmittel darstellten, läßt sich auch am Hund mit 0,08 mg/kg erreichen. Dabei tritt in der Nierenrinde infolge der Durchblutungshemmung ein großer Wärmestau über Stunden ein die gesamte Nierendurchblutung ist diesem entsprechend ebenso lang vermindert, wobei die Wärmedifferenz Arterie-Vene nicht verändert wird. Das Nierenmark beteiligt sich ebenfalls nur wenig an der Vergrößerung der Wärmedifferenz.

Acetylcholin verändert die Nierendurchblutung bei 0,5 γ /kg nicht, ab 2 γ /kg tritt eine geringe Verminderung ein. Bei jeder Dosis Acetylcholin wird jedoch die Wärmedifferenz zwischen der Nierenarterie einerseits und der Nieren-Rinde, -Mark und -Vene andererseits gesteigert. Diese Steigerung bleibt auch nach Atropin bestehen, obwohl dann weder der Blutdruck noch die Nierendurchblutung verändert sind. Dieser Befund läßt auf eine Steigerung der Wärmebildung in der Niere durch Acetylcholin schließen.

Diskussion. OETTEL: Anfrage, ob mit Hilfe des modifizierten Bubble-flow-Meters peristonhaltiges Blut untersucht wurde: Da Kollidon zu einer Ladungsänderung der Erythrocytenmembran (beschleunigte Blutsenkung!) führt, wäre zu erwarten, daß auch die Wanderungsgeschwindigkeit der Luftblase geändert wird.

Schlußantwort. GRUPP: Die Viscosität des durchfließenden Mediums verändert die Eichkurve des automatischen Bubble-flow-Meters nur gering. Die Abweichung der Eichkurve beträgt nie mehr als 5%. Sie liegt in jedem Fall parallel der Eichkurve von Blut von 37°.

KOLLMANNSPERGER und OETTEL (Ludwigshafen/Rh.): Zur Frage der antiphlogistischen Wirkung von Azulenen im Tierversuch.

Im Zusammenhang mit der Untersuchung entzündungserregender und entzündungshemmender Stoffe im Tierversuch wurden von uns

einige der üblichen Testverfahren auf ihre Eignung zum Nachweis anti-phlogistischer Wirkungen geprüft.

I. Senfölschemosis am Kaninchen.

Versuchstechnik: Nach der Technik von HEUBNER u. GRABE wurde Kaninchen eine 30%ige Allylsenföllösung (2×1 Tropfen) in den Konjunktivalsack instilliert. 15 min später begann die Behandlung mit den zu untersuchenden Produkten: In viertelstündlichen Abständen insgesamt 10mal je 1 Tropfen der Lösungen in das rechte und die gleiche Menge des Lösungsmittels zur Kontrolle in das linke Auge. Gesamtdauer der Behandlung 2½ Std.

Um außer der von HEUBNER u. GRABE allein registrierten Heilungsdauer auch die ihr nicht immer parallel verlaufende Stärke der Entzündung beurteilen und mit einer Zahl ausdrücken zu können, wurden die Versuche nach einem Punktsystem ausgewertet: Die 14 Tage lang registrierten und täglich in Punkten festgelegten Entzündungsbefunde jedes Auges wurden addiert. Die Summe diente als Gradmesser für die Stärke der Entzündung. Um einen Vergleich des Entzündungsgrades beider Augen eines jeden Tieres zu ermöglichen und damit den H il-erfolg quantitativ zu erfassen, wurde die Gesamtpunktzahl des linken Auges (Kontrollauge) gleich 100% gesetzt und die Punktzahl des rechten Auges (Versuchsauge) auf diesen Wert bezogen.

Fehlergrenze der Methode: Normalversuche an 150 nur mit Senföl behandelten Kaninchenaugen (150 Tiere) ergaben beträchtliche Unterschiede in der Reaktion verschiedener Tiere (durchschnittliche Gesamtpunktzahl 78, mittlere Abweichung $\pm 28,2$ Punkte, s. Kurve und Diapositive). Große Unterschiede zeigten sich aber trotz sorgfältigster Versuchstechnik auch zwischen beiden Augen der *gleichen* Tiere. So ergab die mittlere Abweichung bei Normalversuchen an 28 unbehandelten Kaninchen mit Senfölschemosis $\pm 23,6\%$, wenn die gesamte Punktzahl eines Auges gleich 100% gesetzt wurde. Bei 7 von 28 Tieren unterschieden sich die Gesamtbefunde beider Augen um mehr als 35%, bei 2 von 28 Tieren sogar um etwa 50%! (Diapositive). Da der Entzündungsgrad anfangs meist beiderseits *gleich* war und etwaige Differenzen erst im späteren Verlauf auftraten, war es nicht möglich, zu Beginn des Versuches die beiderseits verschieden stark auf Senföl reagierenden Tiere auszuscheiden. Die Reihenfolge der Senföleinträufelung (erst rechts, dann links) spielte bei den festgestellten Schwankungen keine Rolle.

Versuche: Bei Versuchen an insgesamt 29 Tieren wurde bei 2½ stündiger Behandlung mit Ol. Chamomillae (20 und 10% ig in Öl) und Guaj-azulen (10 und 1% ig in Öl) in keinem Falle eine signifikante entzündungshemmende Wirkung festgestellt (Diapositiv!).

In Analogie zu der längeren Behandlungsdauer von Entzündungen in der menschlichen Therapie wurde die Methode daher in folgender Weise modifiziert: Bei gleichbleibender Behandlung am 1. Tag erhielt jedes Tier vom 2.—14. Tag 2 bzw. 5 mal täglich je 2 Tropfen der zu untersuchenden Lösungen in das rechte und die gleiche Menge des Lösungsmittels in das linke Auge eingeträufelt. Auch bei dieser langdauernden Behandlung konnte weder für *Ol. Chamomillae* (10% ig in Öl, 16 Tiere) noch für *Guajazulen* (10, 1 und 0,1% ig in Öl, 17 Tiere) eine antiphlogistische Wirkung nachgewiesen werden (Diapositiv). Als Ursache für das Fehlen einer solchen Wirkung konnte eine möglicherweise vorhandene Reizwirkung der Produkte bei wiederholter Applikation ausgeschlossen werden durch Parallelversuche an 6 Tieren ohne Senfölschemosis, die eine völlige Reizlosigkeit der angewandten Konzentrationen ergaben.

Mit dem Ziel, einen weniger starken und daher vielleicht therapeutisch besser zu beeinflussenden Entzündungsreiz zu setzen, wurde in einer weiteren Versuchsserie mit einer 20% igen Lösung von *Allylsenfölgearbeitet* bei sonst gleicher Versuchs- und Auswertungstechnik. Auch bei dieser Versuchsanordnung zeigte *Guajazulen* in 10 und 1% iger Konzentration (10 Tiere) keinerlei Wirkung.

Eine weitere Herabsetzung der Senfölkonzentration auf 15, 10 und 5% erwies sich wegen der sehr unsicheren und ungleichmäßigen Reizwirkung als ungeeignet.

II. Ultraviolettentzündung am Kaninchen.

15 nicht narkotisierte Kaninchen wurden auf der rasierten Bauchseite im Abstand von 10 cm mit einer Quecksilberquarzlampe verschieden lange bestrahlt (15 sec bis 8 min; 6—8 Bestrahlungsstellen pro Tier. Kombination von Licht- und Wärmewirkung!). Die Bestrahlungsstellen der rechten Bauchseite jedes Tieres wurden mit öligen Lösungen von *Ol. Chamomillae* und *Guajazulen* oder mit *Azulonsalbe* behandelt, während die Bestrahlungsstellen der linken Seite unbehandelt blieben. Die Behandlung wurde durch Anlegen von Verbänden sofort nach der Bestrahlung sowie an den darauffolgenden Tagen oder aber durch wiederholtes vorsichtiges Einreiben durchgeführt. Sowohl die Heilungsdauer als auch die Stärke der Entzündung konnte in keinem Fall eindeutig günstig beeinflusst werden.

III. Ultraviolettentzündung an der Ratte.

Bei 50 nicht narkotisierten Ratten wurde in gleicher Weise wie beim Kaninchen an der Bauchseite durch Bestrahlung (30, 60 und 120 sec, 6 Reizstellen pro Tier) eine verschieden starke Entzündung erzeugt. Sofort nach der Bestrahlung sowie am darauffolgenden Tag wurden die

Ratten je 4 Std in Spezialwannen fixiert, in denen sich 1 ml der zu untersuchenden Lösungen von Ol. Chamomillae und Guajazulen oder Olivenöl befanden, oder es wurden ihnen Verbände mit Kamillosansalbe Azulonsalbe oder Ung. molle angelegt. Der Verlauf der Entzündung konnte in keinem Falle beeinflußt werden. Heilungsdauer und Stärke der Entzündung (Schorfbildung) waren bei den mit Azulenen behandelten Versuchs- und bei den mit Olivenöl oder Ung. molle behandelten Kontrolltieren gleich (Diapositiv).

Ausschließlich negative Resultate ergab bei Anwendung der gleichen Testverfahren an einem Tiermaterial von insgesamt 53 Kaninchen und 20 Ratten auch die Untersuchung von 4 synthetischen Azulenen der BASF.

Wieweit aus diesen Tierversuchen auf das Fehlen einer antiphlogistischen Wirkung der Azulene beim Menschen geschlossen werden kann, bleibt offen. Zur pharmakologischen Wertbestimmung von Kamillenzubereitungen sind jedoch nach unseren Erfahrungen die beschriebenen Methoden nicht geeignet.

Diskussion. W. WIRTH (Elberfeld): Während des letzten Krieges wurde auf Grund der pharmakologischen Untersuchungen von HEUBNER und Mitarbeiter Nativ-Azulen bei Augenschädigungen chemischer Art (bei Wehrmachtsangehörigen) vielfach mit deutlichem Erfolg angewendet.

HAUSCHILD (Leipzig): Eigene Untersuchungen bestätigen die schwankende Wirksamkeit von Senföl. Günstigere Ergebnisse könnten durch Anwendung reinen Senföls oder alkoholischer Lösungen vielleicht erzielt werden. Es wird gefragt, ob außer Azulen nicht vergleichsweise ein anderes Antiphlogisticum etwa als Standard in den Versuchen mitlief.

HEUBNER: Ohne Zweifel ist die Beurteilung entzündungswidriger Wirkungen schwer, schon wegen der doppelten Streuung der Entzündungsentwicklung einerseits, der Pharmakotherapie andererseits. Ohne Zweifel war auch der von uns geglaubte therapeutische Effekt des Azulens gering. Aber wir kamen bei der möglichst vorsichtigen Beurteilung auch an der Tracheobronchialschleimhaut des Hundes nach Behandlung mit Lstdämpfen und therapeutischen Versuchen mit Inhalation von synthetischem Nativ-Azulen in Versuchen von HERBERT RIEDEL zu der Meinung, daß ein Nutzen nicht abgeleugnet werden könne. Zu Zweifeln gibt jedoch außer OETTELS Befunden auch die Tatsache Anlaß, daß im Kamillentee-aufguß kein Azulen enthalten ist, sondern nur eine farblose Vorstufe, diese aber in so geringer Konzentration, daß ein eigentlicher Azuleneffekt nur mit Hypothesen gestützt werden könnte.

W. SCHMID (Tübingen): An der (zu) starken Senfölschämie des Kaninchens ist die Azulenwirkung zweifellos schwierig zu zeigen. Mit statistischer Sicherheit ist sie aber an der Entzündung der Haut des Froschbeins (durch 0,01% Senföl oder durch Hypertonie) nachzuweisen. Hier läßt sich während der Azulenapplikation (0,01 bis 0,003%) ein Rückgang der Exsudation feststellen. Bei bioskopischer Beobachtung der Schwimmhaut findet man dabei eine teilweise Lösung von Stasen und interessanterweise auch eine Kontraktion der Melanophoren. Eine raschere Heilung einer irreversiblen Schädigung ist allerdings auch an diesem Objekt nicht zu erzielen.

H. FRIEBEL (Bonn): Bei eigenen Versuchen, die antiphlogistische Wirkung von synthetischen Azulenen zu prüfen, sind wir auf die gleichen methodischen Schwierigkeiten gestoßen, die KOLLMANNSPERGER und OETTEL angeben. Auch uns ist es nicht gelungen, mit der Methode von JUNG, SCHOETENSACK und BRUNO Ergebnisse zu erhalten, die für eine objektive quantitative Auswertung geeignet sind.

Wir haben daraufhin ein Testverfahren entwickelt, das eine objektive quantitative Beurteilung der entzündungswidrigen Eigenschaften von äußerlich angewandten antiphlogistischen Mitteln erlaubt.

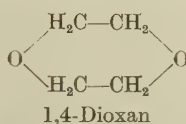
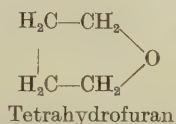
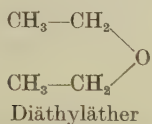
Bei 6—10 Wochen alten männlichen Mäusen wurden beide Ohrinnenflächen mit einem Crotonöl-Olivenölgemisch eingerieben, das mit Hilfe der Capillare einer Erythrocytenpipette genau dosiert wurde. Das nachfolgende entzündliche Ödem des ganzen Ohres erreichte nach 6 Std seinen Höhepunkt, um dann im Verlauf von 3—4 Tagen abzuklingen. Die zu prüfenden entzündungshemmenden Mittel wurden ebenfalls in Olivenöl gelöst, auf gleiche Weise dosiert, und 5, 7 und 8½ Std nach der Crotonölbehandlung in dem einen Ohr verrieben, während das andere Ohr mit der gleichen Menge reinen Olivenöls behandelt wurde. 25 Std nach Versuchsbeginn wurden die Tiere getötet. Unmittelbar darauf wurde 2 mm vom äußeren Ohrtrand entfernt mit Hilfe eines Korkbohrers aus Stahl ein Stück von 4 mm Durchmesser ausgestanzt. Die ausgestanzten Stückchen von 10 Mäusen wurden getrennt nach antiphlogistisch behandelten und unbehandelten Ohren zunächst frisch gewogen, dann bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und erneut gewogen. Aus der Gegenüberstellung der Gewichts differenzen in beiden Serien ergab sich ein objektives Maß für die entzündungshemmende Wirkung. Der Fehler der Methode, d. h. die Abweichung zwischen den Ohrgewichten beiderseits gleichartig behandelter Tiere lag unter 10%. Die Methode wurde an rund 700 Mäusen erarbeitet.

Bei der Arzneimitteluntersuchung mit dieser Methode fanden wir, daß schon die ausschließliche Olivenölbehandlung stark antiphlogistisch wirkt, wesentlich stärker als eine Eucerin- oder Vaselinebehandlung. 20 Std nach ausschließlicher Anwendung von Olivenöl war die entzündungsbedingte Gewichtszunahme der Ohrteichen um 50% stärker abgeklungen als bei völlig unbehandelten Ohren. Über diesen kräftigen Olivenöleffekt hinaus haben wir keine zusätzliche entzündungshemmende Wirkung durch 1-Isopropyl-5-methylazulen gesehen, wenn es in 1% iger Lösung angewandt wurde. 6 weitere blaue Kohlenwasserstoffe, die wir von der BASF, Ludwigshafen, erhalten hatten, wurden in höherer Verdünnung angewandt. Sie konnten ebenfalls die antiphlogistische Wirkung von Olivenöl nicht steigern.

Schlußwort. OETTEL: Die Art der Lösung des Senföls (in Olivenöl) dürfte für die große Streuung der Methode nicht ausschlaggebend sein. Reines Senföl ist wegen seiner zu stark reizenden und degenerierenden Wirkung wohl noch weniger zur Prüfung entzündungsdämpfender Substanzen geeignet. Die von Herrn HAUSCHILD vorgeschlagene Verwendung einer entzündungshemmenden Standardsubstanz führte ja gerade zu den umfangreichen Prüfungen, da wir neue blaue Kohlenwasserstoffe auf antiphlogistische Wirkung untersuchen und mit den „Standardsubstanzen“ Chamazulen und Guajazulen vergleichen wollten, deren Wirkung wir zunächst nicht bezweifelten. Über die Prüfung von Azulenen an der Schwimmhaut und am Mesenterium des Frosches (SCHMID) haben wir keine Erfahrungen. Rückschlüsse aus Versuchen am Kaltblüter auf entzündungshemmende Wirkung am Menschen dürften jedoch kaum gestattet sein. Kritisch angelegte und ausgewertete klinische Versuche über die Wirkung der Azulene am Menschen sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

HOFMANN und OETTEL (Ludwigshafen/Rh.): Zur Frage der Toxizität von Tetrahydrofuran.

Tetrahydrofuran (THF) hat wegen seiner universellen Lösefähigkeit als leicht flüchtiges technisches Lösungsmittel zunehmende Bedeutung erlangt. Als Anhydrid des 1,4-Butandiols hat es Beziehungen zum Diäthyläther und zum Dioxan.



Nicht nur Dioxan, sondern auch THF bewirken nach LEHMANN-FLURY (Toxikologie und Hygiene der technischen Lösungsmittel, Berlin 1938) Leber- und Nierenschädigungen, und beide Lösungsmittel werden von BORBÉLY (Erkennung und Behandlung der organischen Lösungsmittelvergiftungen, Bern 1946) hinsichtlich „starker nephrotoxischer Wirkung“ gleichgestellt.

Bestimmte Beobachtungen bei der Prüfung der Hautreizwirkung von THF ließen jedoch Zweifel an der „dioxanähnlichen“ Wirkung des Produktes aufkommen, weswegen die akute und subakute Toxizität von THF bei parenteraler (50 Mäuse) und peroraler Zufuhr (13 Katzen, 12 Kaninchen, 62 Ratten) und bei der Inhalation der Dämpfe (18 Katzen, 20 Kaninchen, 52 Ratten, 150 Mäuse) sowie seine Haut- (6 Menschen mit 23 Reizstellen, 15 Kaninchen mit 52 Reizstellen) und Schleimhautreizwirkung (15 Kaninchen mit 16 Reizstellen) systematisch geprüft wurden.

Bei der 1mal zwei- bis 30mal sechsständigen Inhalation von THF 60000 bis 3400 cm³/m³ (= 193—10 mg/Liter) wurden als Hauptsymptome — je nach Konzentration und Expositionszeit verschieden starke — Narkose und Schleimhautreizungen beobachtet. Die zu einer tiefen Narkose notwendige Konzentration liegt wie bei Äther in der Größenordnung von 6 Vol%, doch tritt die Narkose bei THF langsamer ein als bei Äther und hält länger an, was auf Grund der besseren Wasserlöslichkeit und der geringeren Flüchtigkeit des Produktes zu erwarten war.

Der empfindlichste Nachweis einer durch technische Lösungsmittel verursachten Leberschädigung ist nach amerikanischen Erfahrungen die Bromsulphaleinprobe nach ROSENTHAL u. WHITE. Zum Beispiel kann mit diesem Test bereits die durch eine 2stündige Chloroformnarkose bewirkte Leberschädigung beim Hund noch nach 40 Tagen (amerikanische Untersuchungen) und beim Kaninchen noch nach 8 Tagen (eigene Untersuchungen) nachgewiesen werden. Zur Kontrolle einer etwaigen Leberschädigung nach THF-Einwirkung benutzten wir diese empfindliche Leberfunktionsprüfung in einer von uns ausgearbeiteten Mikromethode.

Eine unmittelbar nach der Einwirkung narkotischer Konzentrationen von THF (6 Vol%) bei Katzen und Kaninchen nachweisbare geringgradige und rasch vorübergehende Bromsulphaleinretention wurde unter gleichen Bedingungen auch nach Äther (6 Vol%) festgestellt. Nach wiederholter Inhalation von $3400 \text{ cm}^3/\text{m}^3 = 10 \text{ mg/Liter}$ THF ($30 \times 6 \text{ Std}$) konnte aber beim Kaninchen mit der Bromsulphaleinprobe keine Leberschädigung nachgewiesen werden. Auch pathologisch-histologisch war nach wiederholter Inhalation (10×3 bis $30 \times 6 \text{ Std}$ 17000 bis $3400 \text{ cm}^3/\text{m}^3 = 50 - 10 \text{ mg/Liter}$) bei Katzen und Kaninchen keine vom Bild der Kontrolltiere abweichende Leberveränderung zu erkennen. Selbst nach sehr großen peroralen Gaben von THF ($1 \times 3 \text{ cm}^3$ bis $25 \times 1 \text{ cm}^3/\text{kg}$) war weder funktionell noch pathologisch-histologisch eine Leberschädigung nachweisbar.

Die Überwachung der Nieren erfolgte, abgesehen von der regelmäßigen mikroskopisch-chemischen Harnkontrolle und der pathologisch-histologischen Untersuchung der Nieren am Ende des Versuches, durch wiederholte Nierenfunktionsprüfungen (Verdünnungs- und Konzentrationsversuch) und die Bestimmung des Serum-Harnstoffgehaltes nach einer modifizierten volumetrischen Bromlaugenmethode (AMBARD, KNOB-HÜBNER u. KOWARSKI). Auch nach der wiederholten Inhalation von THF (bis zu $10 \times 3 \text{ Std}$ 10000 cm^3/m^3 und $13 \times 3 \text{ Std}$ 5000 cm^3/m^3) und selbst nach den bereits erwähnten hohen, sogar tödlichen peroralen Gaben konnten mit den angewandten Methoden bei Katzen und Kaninchen niemals Befunde erhoben werden, die auf eine Nierenschädigung hätten schließen lassen.

Dagegen bewirkte 1,4-Dioxan unter gleichen Bedingungen fast regelmäßig schwere Nierenschädigungen, erkennbar am abnormen Harnbefund (Eiweiß, Zylinder), zuweilen pathologischen Ausfall der Nierenfunktionsprüfungen, Anurie, Serumharnstoffhöhung bis zu 413/mg% sowie die besonders von FAIRLEY u. Mitarb. und DE NAVASQUEZ beschriebenen histologisch nachweisbaren schweren Veränderungen der Nierenrinde.

Bei der regelmäßigen Kontrolle des Blutbildes zeigten sich nach THF-Inhalation oder -Eingabe keine den Rahmen physiologischer Schwankungen überschreitende Veränderungen.

Hautreizversuche am Menschen ergaben bei verschiedenen Chargen von technischem THF deutlich verschiedene Reizungen. Interessanterweise trat aber stets eine stärkere Reizung nur dort auf, wo THF auf der Haut verdunsten konnte. Während also THF selber primär praktisch reizlos ist, scheinen die bei der Verdunstung des Lösungsmittels auf der Haut zurückbleibenden Verunreinigungen oder irgendwelche dort erst gebildeten Umsetzungsprodukte für die Hautreizwirkung verantwortlich zu sein. Da in THF ebenso wie in Äther leicht Peroxyde entstehen,

könnten durch solche Peroxyde nicht nur die stärkeren Hautreizungen sondern vielleicht auch die in früheren Versuchen (LEHMANN-FLURY, S. 203) beobachteten Leber- und Nierenschädigungen verursacht worden sein. Die Natur und die Bedeutung solcher Umsetzungsprodukte wird noch geprüft.

F. LEMBECK (Graz): Über den Nachweis von 5-Oxytryptamin in Carzinoidmetastasen.

Nach ERSPAMER (1940) können die enterochromaffinen Zellen (Gelbe Zellen) des Magen-Darmtraktes als Ursprungsstätten des 5-Oxytryptamin (Enteramin) aufgefaßt werden. FEYRTER bezeichnet diese Zellen als eine Gruppe der „Helle-Zellen-Systeme“; die von ihnen ausgehenden Karzinoide wurden bereits von ihm und UNNA sowie von SELBERG auf pharmakodynamisch wirksame Substanzen, allerdings mit widersprechenden Ergebnissen, untersucht.

Bei einer eingehenden pharmakologischen Prüfung (Rattenuterus und -colon, Meerschweinchen- und Kaninchenileum, Desensibilisierung durch große Dosen Serotonin, Blutdruck, innervierte und denervierte Nickhäute, Kaninchenohrdurchströmung, Papierchromatographie, qualitative und quantitative Diazoreaktionen) fanden sich in Karzinoidmetastasen aus Gekröse und Leber (Obduktionsmaterial) mindestens 2,5 mg/g 5-Oxytryptamin. Ferner konnte eine zweite, ebenfalls darmwirksame, aber durch große Oxytryptamindosen nicht hemmbare Substanz, die keine Diazoreaktionen gibt und einen niedrigeren R_T -Wert zeigt, nachgewiesen werden; auf sie kann etwa die Hälfte der Wirksamkeit am Meerschweinchenileum zurückgeführt werden. Acetylcholin, Histamin, Adrenalin und Substanz P konnten ausgeschlossen werden.

Diese Befunde bestätigen ERSPAMERS Annahme über die Herkunft des 5-Oxytryptamin und stützen FEYRTERS Thesis über die mögliche endokrine Bedeutung der enterochromaffinen Zellen.

Literatur.

ERSPAMER, V.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 343 (1940). — FEYRTER, F.: Über die peripheren endokrinen Drüsen des Menschen. Wien-Düsseldorf: Maudrich 1953. — FEYRTER, F., u. K. UNNA: Virchows Arch. **298**, 187 (1936). — SELBERG, W.: Klin. Wschr. **1941**, 1271.

HELMUT KEWITZ (Berlin-Dahlem): Über die nicht cholinergische Überträgerfunktion sympathischer Ganglien.

Der Theorie entsprechend soll durch die Erregung an den im Ganglion endigenden Nervenfasern Acetylcholin freigesetzt werden und als Überträgersubstanz die Erregung des peripheren Neurons bewirken. Danach

muß durch Verminderung der Acetylcholinempfindlichkeit der peripheren Nervenzelle eine Störung der Überleitungsfunktion verursacht werden.

In Versuchen mit sogenannten parasymphaticolytischen Stoffen am isoliert durchströmten oberen Halsganglion der Katze war diese Forderung nicht erfüllt. Scopolamin, Atropin, Trasentin H und Novocain hemmten in Dosen von 10—50 γ nur die durch Acetylcholin hervorgerufene Erregung. Die Überleitung der durch submaximale elektrische Reizung ausgelösten Erregung blieb vollständig unbeeinflußt.

Im Gegensatz dazu verminderte das Lokalanaestheticum Pantocain nur die Erregungsübertragung und nicht die Acetylcholinwirkung. Qualitativ gleichartig wirkte Novocamid, das nur im Quaddelversuch nicht aber am freigelegten Ischiadicus eine Anaesthetie hervorruft, die etwa so stark ist wie eine durch Novocain erzeugte.

In den Phenothiazinderivaten Megaphen, Latibon und Atosil sind beide Wirkungen vereinigt, jedoch gut voneinander zu trennen. Die acetylcholinwidrige Komponente ist stärker und hält länger an. Die genannten Substanzen haben auch an anderen Objekten anticholinergische und lokalanaesthetische Wirkungen.

Damit ist nachgewiesen, daß die Parasympathicolytica nicht nur die Acetylcholinwirkung an den Vagusendigungen aufheben, sondern auch die in sympathischen Ganglien. Mit Atropin haben ROTHLIN und KONZETT das schon 1949 beobachtet, jedoch nicht die Überträgerfunktion ihrer Präparate geprüft. Die hier mitgeteilten Untersuchungen zeigen den Unterschied zwischen den Vagusendigungen, von denen eine Erregung unter der Wirkung von Atropin nicht auf das Erfolgsorgan übertragen wird, und sympathischen Ganglien, deren Überträgerfunktion durch Parasympathicolytica nicht gestört wird. Daraus kann geschlossen werden, daß Acetylcholin für die Erregungsübertragung in symp. Ganglien nicht unbedingt erforderlich ist.

Diskussion. v. BRÜCKE (Wien): Die bisher gezeigten Ergebnisse sind noch nicht geeignet, die Acetylcholin-Theorie der Erregungsübertragung zu erschüttern. Es besteht ein großer Unterschied zwischen synaptisch freigesetztem und injiziertem Acetylcholin. Intraganglionär injiziertes Atropin kann auch unspezifische Wirkungen haben.

GINZEL (Wien): Hinweis auf den von G. L. BROWN erhobenen Befund, wonach es 3 Wochen nach der Durchschneidung der postganglionären Fasern des Gangl. coeliacum zu einer Blockade der Erregungsübertragung in diesem Ganglion kam; die Freisetzung von Acetylcholin im Ganglion bei präganglionärer Reizung blieb dabei unverändert.

Schlußwort. KEWITZ: Die großen Differenzen zwischen der Wirkung synaptisch freigesetztem und injiziertem Acetylcholin, von denen Herr Professor von BRÜCKE sprach, sind bisher nicht bewiesen. Mehrere andere von uns untersuchte Substanzen beeinflussen beide Erregungsformen gleichsinnig. Die durch injiziertes Acetylcholin hervorgerufene Erregung gehört meines Wissens sogar zu den Grundlagen der

Acetylcholintheorie. Für die Annahme, daß die anticholinergischen Wirkungen von Scopolamin oder Atropin in den verwendeten geringen Dosen an unserem Objekt unspezifische sein könnten, liegen keine Anhaltspunkte vor. Außerdem haben wir in anderen Experimenten mit verschieden zusammengesetzten Durchströmungsflüssigkeiten auch ohne vorherige Einwirkung von Arzneimitteln ähnliche Diskrepanzen gefunden. (Die Arbeit erscheint demnächst in dieser Zeitschrift.)

Die von Herrn GINZEL angeführten Beobachtungen von BROWN, McLENNAN und PASCOE sind in mancher Hinsicht geeignet, meine Interpretation der vorgetragenen Befunde zu unterstützen.

W. STAIB (Mainz): Untersuchungen an der Cholinacetylase.

Mit Hilfe der Kombination von papierchromatographischer Trennung und biologischer Auswertung konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß bei der Acetylcholinsynthese mit Acetylase aus Kaninchenhirnpulver nach FELDBERG u. MANN nur Acetylcholin (Ach) gebildet wird.

10 Fermentansätze wurden nach FELDBERG u. MANN hergestellt (Versuchsreihe I). Zu 10 weiteren Ansätzen mit zerstörter Acetylase (Versuchsreihe II) wurden je 50 γ Ach und 50 γ Succinyldicholin (SDch) gegeben. Die Aufarbeitung beider Versuchsreihen auf Cholinester erfolgte durch Gefriertrocknung der Ansätze, Extraktion mit 90% igem Äthanol, Vakuumdestillation und Aufnahme der Trockenrückstände mit wenig Wasser. Chromatographie in n-Propanol, Benzylalkohol, Wasser 5:2:2 (WHITTACKER u. WIJESUNDERA). Laufzeit 12 Std. Die getrockneten Chromatogramme wurden in 1 cm breite Streifen unterteilt, diese mit je 1 ml Kaltblütertyrode eluiert und die Eluate am eserinierten *Musc. rect. abd.* des Frosches getestet. Kontrahierende Wirkungen fanden sich für Versuchsreihe I bei R_f 0,48, für II bei R_f 0,48 und 0,15. Nach WHITTACKER u. WIJESUNDERA entspricht bei dem verwendeten Lösungsmittel ein R_f von 0,48 Ach, ein R_f von 0,17 Succinylmonocholin (SMch). SDch hat einen R_f von 0,3. Das zugesetzte SDch wird bei der einstündigen Inkubation weitgehend zu SMch verseift.

Salyrgan in einer Konzentration von 2×10^{-3} Mol hemmt die Ach-Synthese nach FELDBERG u. MANN vollständig. Oxarsan hemmt in der gleichen Konzentration um etwa 50%.

Literatur.

- ¹ FELDBERG, W., and T. MANN: J. of Physiol. 104, 8 (1945); 104, 411 (1946).
— ² WHITTACKER, P., and S. WIJESUNDERA: J. of Biochem. 51, 348 (1952).

A. HERZ (München): Beziehungen lokaler Reizwirkungen von Benzochinonen und Naphthochinonen zur Hemmung der Dehydrasen des Kohlenhydratstoffwechsels.

An einer Anzahl Benzochinonen und Naphthochinonen wurde untersucht, ob sich Zusammenhänge lokaler Reizwirkung und Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels aufzeigen lassen.

Mittels intracutaner Injektion wurden im Selbstversuch die schmerz-wirksamen Grenzkonzentrationen ermittelt. Die Entzündungserregung wurde durch Einträufeln der Giftlösungen in den Konjunktivalsack bei Kaninchen geprüft. An der Froschzunge erfolgte bei mikroskopischer Betrachtung die Feststellung der Schwellenkonzentrationen die noch eine Veränderung des Capillarflusses bewirkten. Ähnliche Versuche wurden auch an der Konjunktiva von Kaninchen ausgeführt.

Die Chinone greifen, nach Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren, vorwiegend auf der Stufe der Dehydrasen in den Abbau der Kohlenhydrate ein. In eigenen Versuchen wurde an Froschmuskelbrei die Hemmung der Dehydrierung von Bernsteinsäure, Citronensäure und Brenztraubensäure mit Triphenyltetrazoliumchlorid als Acceptor untersucht. Daneben kamen auch Bernsteinsäuredehydrasepräparationen aus Herzmuskel zur Anwendung. Ein Teil der geprüften Körper erwies sich als starke Dehydrasenhemmer. Einige Naphtochinone waren daneben auch als Wasserstoffüberträger wirksam.

Ordnet man die geprüften Substanzen nach abnehmender Dehydrasenhemmung, so stimmt diese Reihenfolge gut mit derjenigen der Schmerzerregung überein. Die Substanzen, bei denen der Schmerz bei intracutaner Injektion erst nach einer 10—30 sec währenden Latenzzeit in Erscheinung tritt — bei den meisten Körpern setzt der Schmerz fast unmittelbar nach der Injektion ein — sind dieselben, die auch als Wasserstoffüberträger wirksam sind. Die Reihenfolge abnehmender Entzündungserregung stimmt mit derjenigen der Dehydrasehemmung und Schmerzwirksamkeit überein. Bei der Wirkung auf die Capillaren in niederer Konzentration dagegen läßt sich eine solche Übereinstimmung nicht erkennen. Einzelne nicht oder nur mäßig dehydrasentoxische Substanzen sind hier hochaktiv.

Durch diese Untersuchungen ist für Benzochinone und Naphthochinone eine Korrelation von Dehydrasenhemmung mit der Schmerz- und Entzündungserregung aufgezeigt wie sie FLECKENSTEIN bei einer Reihe meist halogenerter, ungesättigter Körper festgestellt hat. Zweifellos kommt der Hemmung der Dehydrasen als Ursache lokaler Reizung besondere Bedeutung zu. Die abweichende Wirkung auf die Capillaren zeigt aber — auch dies stellt eine Reizwirkung dar — daß auch noch andere Mechanismen eine Rolle spielen.

Diskussion. FLECKENSTEIN: Die dehydrierenden Fermentsysteme scheinen eine leicht verwundbare „Achillesferse“ im Zellstoffwechsel zu sein, an der eine große Zahl chemisch sehr verschiedenartiger Stoffe mit Schmerz- und Entzündungswirkung anzugreifen vermag (halogenierte Substanzen, arsenhaltige Reizstoffe, ungesättigte Verbindungen vom Typ Acrolein bzw. Allylsenfö, tierische Gifte usw.). Die neuen Untersuchungen von HERZ haben jetzt eine weitere Gruppe dehydrasenhemmender Schmerz- und Entzündungsgifte erschlossen. Es ist wohl kaum mehr zu

bezweifeln, daß die auffälligen Schmerz- und Entzündungseffekte solcher Dehydrasen-Gifte in ursächlicher Abhängigkeit von dieser Ferment-Blockierung auftreten.

Schlußwort. HERZ: Für das Zustandekommen relativ spezifischer Wirkungen einzelner Reizstoffe auf bestimmte Gewebelemente sind, neben biochemischen Reaktionen, wohl besondere physikalisch-chemische Eigenschaften (Lipoidlöslichkeit, Adsorbierbarkeit, Permeationsfähigkeit usw.) verantwortlich zu machen.

N. GOSSWEILER, K. KIPPER, G. PORETTI und W. RUMMEL (Bern): Der Einfluß von Kalium und Calcium auf den Kaliumaustritt aus Muskelgewebe.

Wir wollten den Kaliumaustritt aus dem Rattenzwerchfell unter dem Einfluß erhöhter Kalium- und Calciumkonzentrationen beobachten. Zu dem Zweck haben wir ein mit radioaktivem Kalium beladenes Zwerchfellstück in ein Badegefäß eingehängt. Man erhält eine gut meßbare Aktivität, wenn man einer Ratte von 150—200 g etwa $125 \mu\text{C}$ 1—2 Std vor dem Versuch intraperitoneal injiziert. Das war im Durchschnitt 1 ml einer 2,5%igen K^{42}CO_3 -Lösung. Wir haben es so eingerichtet, daß der Austritt von K^{42} in die Badeflüssigkeit fortlaufend gemessen werden konnte.

Beginnt man gleich nach Einhängen des Zwerchfellstückes den Versuch, so nimmt die Aktivität in der umgebenden Flüssigkeit sehr rasch zu. Das beruht auf dem rapiden Kaliumverlust der durch die Präparation zerstörten Zellen und dem Kaliumverlust aus den anhaftenden dickeren Intercostalmuskeln, deren O_2 -Bedarf durch Diffusion nicht gewährleistet werden kann. Um diese Nachteile, die beim Arbeiten mit diesen Stückchen Warmblütergewebe in vitro in Kauf genommen werden müssen, möglichst weitgehend zu verringern, wurde 20 min lang vor Beginn der Messung fortwährend gespült. Die Untersuchungen sind alle an ruhenden Muskeln durchgeführt worden.

Aus dem Muskel tritt mit praktisch linearer Regression Kalium aus, was sich in der fortlaufenden Aktivitätszunahme der Suspensionsflüssigkeit zeigt. Nach 32 min wurde die Calciumkonzentration auf $21,5 \text{ mEq/l}$ durch Injektion isotonischer Calciumchloridlösung erhöht — das ist rund das 4fache der Norm — und mit einer gewissen Verzögerung wird dadurch der Kaliumaustritt aus dem Muskel — in diesem Fall praktisch völlig — abgebremst. In den ersten 30 min treten pro Minute und mgTgw. etwa $3 \times 10^{-5} \mu\text{Eq}$ Kalium aus und nach Calcium in den zweiten 30 min nichts mehr, d. h. eine innerhalb des Meßfehlers liegende Menge.

Der Effekt höherer Calciumkonzentrationen kann nun durch eine Steigerung der Kaliumkonzentration auf $10,5 \text{ mEq/l}$ — rund das 4fache — wieder rückgängig gemacht werden, obwohl die Calciumkonzentration nach wie vor in derselben abnormen Höhe weiter besteht. Die Austritts-

rate war auch hier durch Calcium so stark herabgemindert, daß in den zweiten 20 min kaum etwas Kalium den Muskel verließ. Umso eindrucksvoller ist die Tatsache, daß dann durch Erhöhung der Kaliumkonzentration wieder wie zu Beginn $1,25 \times 10^{-4} \mu\text{Aeq Kalium/min/mgTgw.}$ in die Badeflüssigkeit abgegeben werden.

Worauf beruht dieser Calciumeffekt und der entgegengesetzte Kaliumeffekt eigentlich? Calcium erhöht auch an unserem Objekt das Membranpotential, wie Messungen an der Einzelfaser mit Mikroelektroden ergaben, die wir Herrn Dr. WEIDMANN verdanken. Die Bedingungen waren gleich wie bei den Experimenten mit K^{42} . Unter erhöhter Calciumkonzentration steigt das Ruhepotential um 10 mV an. Da durch diese Potentialerhöhung um 10 mV eine fast 100%ige Aufhebung des Kaliumaustritts quantitativ kaum erklärt werden kann, darf man wohl eher eine direkte Änderung der Durchlässigkeit der Membran dafür ansuldigen. Allerdings könnte man der Hypothese von HODGKIN folgend noch an eine Fixierung des Natrium Carriers durch Calcium an der Außenseite der Membran denken, was dann ebenfalls indirekt zur Minderung des Kaliumverlusts führen würde.

Wir neigen mehr zu der Annahme, daß den beobachteten Veränderungen colloidchemische Effekte zugrunde liegen.

Durch die Messung des Kaliumaustritts mit radioaktivem Kalium konnte somit eine schon bei RINGER anklingende Annahme über die Natur der Calciumwirkung im Kalium-Calcium-Antagonismus sehr wahrscheinlich gemacht werden.

Diskussion. LÜLLMANN: Es wird darauf aufmerksam gemacht, daß aus dem Anstieg der Radioaktivität in der Suspensionsflüssigkeit nicht eindeutig auf den K-Verlust des Muskels geschlossen werden kann, da als zweite Variable die K-Austauschrates enthalten ist.

Schlußantwort. RUMMEL: Aus den Ergebnissen wird kein Schluß auf die Abnahme der Kaliuminnenkonzentration gezogen, da das ohne weitere Meßdaten nicht möglich ist.

MARTIN BÜHLER (Tübingen): Versuche zum Glykogenaufbau am überlebenden Mäusezwerchfell.

Verbesserung des Glykogennachweises durch Einführung der Anthronmethode und Erhöhung der Alkoholkonzentration bei der Glykogenfällung ergeben exakte Bestimmungen noch bei Muskelstückchen von 15 mg. Dadurch ist es möglich, die Glykogensynthese in vitro am Mäusezwerchfell zu studieren, welches den Vorteil hat, die Bedingungen der WARBURGSchen Schichtdicke sicher zu wahren. Ein bedeutender Glykogenaufbau von 315% gegenüber dem Ausgangswert bzw. 4,5 mg Glykogen pro 1 g Muskel in 1 Std zeigt sich in Tyrodelösung mit 0,3% Glucose und guter Sauerstoffdurchströmung. Der Glykogengipfel wird innerhalb

1—2 Std erreicht; danach erfolgt Absinken des Muskelglykogens. 2—3E Insulin bewirken eine zusätzliche Glykogensynthese um 40—50%.

Narkotica hemmen die Glykogensynthese bereits in Konzentrationen, die deutlich unterhalb des Bereiches liegen, in dem Kontraktion und Atmung gelähmt wird.

Cyanid und Jodacetat hemmen in Verdünnungen, bei denen die Atmung bzw. andere Fermentsysteme auch blockiert werden.

Eine überraschend starke Beeinträchtigung erfährt die Glykogensynthese durch Fluorid, Quecksilber und Arsen. Die beiden letzteren wirken bereits bei der Verdünnung von 10^{-6} , mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Bremsung der Phosphoglucomutase.

Insulin und Cystein vermögen mittels ihrer SH-Gruppen Arsen teilweise zu entgiften.

LANGE (Mainz): Untersuchungen der Nucleotide von glatten Muskeln in Abhängigkeit vom Funktionszustand.

In kontinuierlicher Analyse wurden Muskeln auf ihren Gehalt an Adenosintriphosphorsäure (ATP), Adenosindiphosphorsäure (ADP), Adenosinmonophosphorsäure (AMP) und Inosinmonophosphorsäure (IMP) untersucht. Die aus fein zerkleinerten Muskeln gewonnenen Alkoholextrakte wurden mit Hilfe von Hochspannungs-Papierionophorese vorgetrennt und im Papierchromatogramm identifiziert. Zur Charakterisierung der Nucleotide dienten Nucleotidpräparate des Handels als Vergleichssubstanzen, UV-Spektrophotometrie, P- und Ribose-Nachweis.

Bei Anwendung dieser Methode auf Rectusmuskeln von *Rana esculenta* ergibt sich eine ATP-Abnahme um etwa $0,3 \mu\text{M/g}$ am Ende einer Kontraktion (Acetylcholin 10^{-5} in Froschtyrodelösung bei Zimmertemperatur) gegenüber einem nichtkontrahierten Muskel. Die ATP-Abnahme erfolgt zu Gunsten einer geringen ADP- und einer ausgesprochenen IMP-Zunahme.

Mit derselben Methode erhält man für Kaninchenmagen-Streifenpräparate folgende Ergebnisse, die zum Teil von den am Skelettmuskel gewonnenen abweichen: Magenstreifen in einem Ruhetonus, wie er sich nach 30 min im Tyrodebad von 38°C einstellt, enthalten die untersuchten Nucleotide der Menge nach in folgender Reihenfolge: $\text{ATP} > \text{ADP} \approx \text{AMP}$. Mit Papaverin erschlaffte Präparate sind gekennzeichnet durch einen relativ noch größeren AMP- und einen großen ADP-Gehalt, wobei $\text{ADP} > \text{ATP}$. Dagegen ergibt sich am Ende einer Kontraktion (Acetylcholin, Adrenalin, Tonephin, Ba^{++} , Kälte) folgendes Verhältnis: $\text{ATP} > \text{ADP} > \text{AMP}$. Beim Kaninchenmagen läßt sich AMP in zwei Fraktionen aufteilen, die sich durch ihre Wanderungsgeschwindigkeit in der Ionophorese nicht aber in Chromatogramm, im UV-Spektrum,

im P- und Ribosegehalt unterscheiden. IMP wurde im Kaninchenmagen in keinem Falle nachgewiesen.

In der vorliegenden Untersuchung wird nur die Beziehung zwischen Gesamtgehalt an den einzelnen Nucleotiden und Funktionszustand erfaßt. Es können deshalb noch keine Schlüsse auf eine Beziehung zwischen den kontraktile Proteinen und ATP-Stoffwechsel gezogen werden.

Diskussion. FLECKENSTEIN: Es wird betont, daß das von LANGE angegebene, vermehrte Auftreten von IMP (Inosinsäure) bei der Acetylcholin-Kontraktur des Froschrectus nur als ein Spezialfall gelten kann. In eigenen papierchromatographischen Untersuchungen an 130 Rectus-Paaren von Esculenten, Temporarien und Kröten war im Zustand maximaler Verkürzung weder bei elektrischer Reizung (2—5 sec Tetanus bei 0° C), noch bei der KCl-Kontraktur (45—60 sec Dauer bei 0° C, bzw. 15 sec Dauer bei 20° C) irgendeine Verminderung von ATP oder irgendeine Zunahme von ADP festzustellen. IMP und AMP waren im Kontraktions- und Ruhezustand nicht in nachweisbarer Menge vorhanden. Nur die irreversible Schädigungskontraktur durch Coffein (½% Coffein-RINGER 2½ min bei 20° C) war durch ATP-Zerfall und Bildung von IMP ausgezeichnet; dagegen verlief die Coffein-Kontraktur unter sonst gleichen Bedingungen bei 0° C ohne ATP-Abnahme und IMP-Bildung (vgl. FLECKENSTEIN, Vortrag Physiologen-Kongreß Homburg/Saar 1953; FLECKENSTEIN u. JANKE, Pflügers Arch. [im Druck]). Die ATP-Werte von LANGE liegen teilweise um 1 µmol niedriger als die eigenen Werte. Es wird vorgeschlagen, die Muskeln im Augenblick der Kontraktion in flüssiger Luft einzufrieren und nach Pulverisierung mit Trichloressigsäure zu extrahieren, um einen eventuellen ATP-Zerfall bei der Aufarbeitung der Muskeln zu vermeiden.

Schlußwort. LANGE: Da die Untersuchungen an Froschmuskeln nur zum Vergleich zu den Versuchen mit glatten Warmblütermuskeln dienen sollten, wurden sie bei Zimmertemperatur durchgeführt. Trichloressigsäure wurde absichtlich nicht als Extraktionsmittel verwendet, da Trichloressigsäureextrakte wegen ihres pH bzw. wegen des relativ hohen Salzgehaltes nach Neutralisation zur Papierchromatographie wenig geeignet sind. Auch das Einfrieren in flüssiger Luft wurde absichtlich vermieden, da glatte Muskeln beim Eintauchen in flüssige Luft sofort kontrahieren. Für Skelettmuskeln birgt das Verfahren ebenfalls eine gewisse Unsicherheit. Nach LUNDSGAARD kontrahieren erschlaffte Muskeln beim Eintauchen in flüssige Luft erst nach langsamem Abkühlen bis zu Temperaturen von unter 0° C sicher nicht mehr. Andererseits können bereits kontrahierte Muskeln nach Versuchen von DUBUISSON und GODEAUX beim Eintauchen in flüssige Luft teilweise erschlaffen. Daß die gefundenen ATP-Werte niedriger sind als die von FLECKENSTEIN angegebenen, könnte auch in der Verwendung verschiedenartiger Tiere begründet sein. Die höheren Werte FLECKENSTEINS beziehen sich meines Wissens besonders auf Temporarien und Kröten, während in der vorliegenden Arbeit nur Esculenten, und zwar Winterfrösche verwendet wurden.

JÜRGEN LINDNER (Uetersen): Bestimmung proteolytischer Verdauungsfermente.

Zu den Vorbedingungen körpereigener Eiweißsynthese gehören die proteolytischen Vorgänge der Verdauung. Die klassische Theorie der peptischen Magenproteolyse mußte einer Prüfung unterzogen werden, als die Diskrepanz zwischen schwach saurem Milieu und guter Proteo-

lyse im Kleinkindmagen auffiel. FREUDENBERG und BUCHS, die ihre Untersuchungen auch auf die Proteolyse im Magen Erwachsener ausdehnten, stellten im Magensaft und später auch im Duodenalsaft ein eiweißspaltendes Ferment fest, das sich durch Wirksamkeit im schwach sauren Milieu bei p_H 3—5 auszeichnet. Entsprechend den Untersuchungsergebnissen von WILLSTÄTTER und BAMANN an intracellulären Proteasen wurde dieses Ferment Magenkathepsin genannt; es spaltet die Eiweißkörper bei ihrem isoelektrischen Punkt.

In den inzwischen vergangenen 13 Jahren ist man zu der Anschauung gekommen, daß der zeitliche und quantitative Hauptanteil an der Eiweißspaltung im Magen diesem Kathepsin zuzuschreiben ist. Seine Initialspaltung kann durch Pepsin weitergeführt werden.

Die p_H -Aktivitätskurve eines menschlichen Magensaftes weist auch zwei Gipfel auf wie die demonstrierte Kurve von Magenextrakt: Der eine Gipfel entspricht dem Pepsinoptimum, der zweite dem Kathepsinoptimum. Da manche hierin nur den Ausdruck einer einheitlichen Magenprotease mit zwei Optima sehen wollten, wurden verschiedene Trennungsversuche durchgeführt, unter anderen von MERTEN, SCHRAMM und GRASSMANN sowie von LANG und WEGENER. Wir sind papier-elektrophoretisch vorgegangen und haben danach die Papierstreifen — nach einem von WALLENFELS und von PECHMANN angegebenen Verfahren — in einer warmen, feuchten Kammer auf die Gelatineschicht eines Films gelegt. An dem Abbau der Gelatine sind zwei voneinander getrennte proteolytische Zonen erkennbar.

Zur Bestimmung proteolytischer Fermente benutzen wir eine Methode mit Kasein als Substrat und messen nephelometrisch den Substratschwund. Da der Zusammenhang zwischen Fermentwirkung und -menge nicht linear ist, und auch die Wirkung keine Exponentialfunktion der Fermentmenge darstellt, wurde eine zweite Eichkurve aufgestellt, die die Abhängigkeit des Substratschwundes von der Fermentmenge zeigt und von der zugleich die Fermenteinheiten abgelesen werden. Wir definieren eine Einheit als die Fermentmenge, die das vorgelegte Substrat von 3,3 mg Kasein unter bestimmten Bedingungen zu 50% abbaut.

Mit dieser Methode wurde auch menschlicher Magensaft untersucht. Die Fermentaktivitäten wurden bei den entsprechenden p_H - und Temperatur-Optima von Pepsin, Kathepsin und Trypsin bestimmt. Das Untersuchungsmaterial stammt von fraktionierten Magenausheberungen vor und 30 min nach einem Alkohol-Probetrunk. Die Abnahme der peptischen und katheptischen Fermentaktivität nach dem Sektetionsreiz ist als Verdünnungseffekt zu deuten. Trotz guter Fermentaktivität wurde bei einer zweiten Patientengruppe keine Reaktion auf den Probetrunk gesehen. Eine dritte Gruppe zeigte ein unterschiedliches Verhalten der Pepsin- und Kathepsinaktivität nach der Alkoholgabe.

Diskussion. PFISTERER (Köln): An der Chirurgischen Univ.-Klinik Köln-Lindenburg wurden von PFISTERER und MOHR 60 Magenresezierte auf die Kathepsinaktivität des Restmagens untersucht. Wir bedienten uns der Methode nach BUCHS (Basel), bei der als Eiweißsubstrat je 1 ml einer 0,1%igen Edestinlösung in n/25 Essigsäure (pH 3,3) zu einer Verdünnungsreihe von Magensaft zugegeben wurde. Nach einstündiger Bebrütung im Thermostaten bei 40° wurden die Fermente durch Erhitzen auf 100° zerstört und das nicht verdaute Edestin durch 20%ige Sulfosalicylsäure ausgefällt. Ist z. B. das 7. Röhrchen das letzte klare (d. h. bis zu diesem Punkt der Verdünnungsreihe ist das gesamte Edestin verdaut), so würde 1 ml Magensekret in 1 Std 256 ml 0,1%ige Edestinlösung verdauen.

Normalwerte für den menschlichen Magen liegen nach BUCHS und FREUDENBERG zwischen 128 und 512.

Ergebnisse.

1. 50 beschwerdefreie Operierte, bei denen vor 5—6 Jahren eine Resektion des unteren Magendrittels wegen Magen- oder Zwölffingerdarmgeschwüres durchgeführt worden war, wiesen Edestin-Verdauungswerte auf, die den Werten im normalen Magen entsprechen.

Trotz Sub- und Anacidität, wie sie fast durchweg im resezierten Magen gefunden wird, ist bei der Drittelresektion die Kathepsinaktivität nicht vermindert. Wir verweisen hierbei auf die interessanten Untersuchungen von BRAMSTEDT und LINDENSCHMIDT. Eine Parallele zwischen Acidität und Kathepsinaktivität konnte nicht gefunden werden.

Ein Zusammenhang zwischen der bei etwa 40% der Resezierten gefundenen Milch- und Zuckerunverträglichkeit und der Kathepsinaktivität konnte nicht festgestellt werden. Dies fassen wir als Bestätigung unserer früheren Untersuchungsergebnisse auf, die die postoperative Milch- und Zuckerunverträglichkeit nicht als ein Milcheiweiß-Verdauungsproblem, sondern als eine Zuckerresorptionsstörung deuten.

2. Diejenigen Magenoperierten, bei denen zum Mageneingang hin ein größerer Magenabschnitt entfernt werden mußte, weisen entsprechend der Größe des entfernten Magenabschnittes abnehmende Kathepsinwerte auf.

3. Bei Entfernung des gesamten Magens und Verbindung von Speiseröhre mit Dünndarm ist eine hochgradig verminderte Kathepsinaktivität festzustellen. Die noch vorhandene geringe Kathepsinwirkung kann hierbei nur der Dünndarmschleimhaut der Anastomose entstammen.

4. In den Fällen, in denen der untere, d. h. pförtnerwärts gelegene Anteil (Antrum) mit der Speiseröhre verbunden wurde (Entfernung des oberen und mittleren Magendrittels), war eine fast normale Edestinverdauung festzustellen. Es scheint demnach, daß das Kathepsinoptimum des Magens sich auf den unteren pförtnernahen Magenschleimhautabschnitt konzentriert.

W. FÖRSTER und H. OETTEL (Ludwigshafen/Rh.): Über die choleretische Wirkung hydroaromatischer Carbonsäuren.

Es wurden folgende hydroaromatische Carbonsäuren auf choleretische Wirkung geprüft: Camphan-, Pinan-, Menthän-, Isomethan-, Dipentan-, Dipentandi-, Tricyclodekan-, Hexahydrotoluyll-, Dekalylcarbonsäure und Dekalylessigsäure (in Form ihrer Natriumsalze). Als Vergleichssubstanzen dienten die bekannten Choleretica: Dehydrocholsäure, Synthobilin, Menthol, Camphersäure, p-Tolylmethylcarbinol, Phenylchinolincarbo-

säure, Sulfarlem (Anetholtrithion) und β -(1-Methoxy-4-naphthoyl)-propionsäure (letztere von GUNTER u. Mitarb. unter 145 Substanzen am wirksamsten befunden).

1. Rattenversuche.

Methode. Nach Einbinden einer Glaskanüle in den Duct. choledochus wird die Galle halbstündlich gewogen; nach 3 Halbstundenwerten („Normalsekretion“) intramuskuläre Injektion der Substanzen; Beobachtungsdauer nach der Injektion 4—5 Std.

Auswertung. In jedem Versuch wird nur die jeweils größte Gallenmenge einer $1\frac{1}{2}$ Std berücksichtigt und die Sekretionssteigerung prozentual auf die „Normalsekretion“ bezogen. Aus den mittleren Sekretionssteigerungen (je Dosis mindestens 5 Ratten) ergeben sich auf doppelt logarithmischem Papier aufgetragenen Dosiswirkungsgerade, die für quantitative Vergleiche verschiedener Substanzen geeignet sind. Zur Beurteilung der einzelnen Substanzen dienen folgende Werte (Tab. 1).

1. Die mittlere letale Dosis (LD 50, Spalte 1).
2. Die durch die LD 50 bewirkte mittlere prozentuale Gallensekretionssteigerung als Ausdruck der maximal möglichen Anregung des Gallenflusses (Spalte 2).
3. Die Dosis, die eine 100%ige Gallensekretionssteigerung bewirkt (ED 100%, Spalte 3).
4. Die „therapeutische Breite“ des choleretischen Effektes, gekennzeichnet durch den Abstand der ED 100% von der LD 50 (Spalte 4).

Tabelle 1. Gallensekretionssteigerung bei der Ratte.

Substanz	LD 50 Ratte i. m. mg/kg	Sekretions- steigerung durch LD 50 %	ED 100 % mg/kg	ED 100 $\frac{1}{2}$ = x % der LD 50 %
Dehydrocholsäure	1500	340	120	8
Synthobilin	1200	85	1200	100
Camphancarbonsäure	850	230	150	18
Pinancarbonsäure	700	190	140	23
p-Tolylmethylcarbinol	1000	170	400	40
Camphancarbinol	8000	90	9000	100
Menthol	10000		2500	25
Phenylchinolincarbonsäure	500	22	500	100
Sulfarlem	35	90	35	100
Methoxynaphthoylpropionsäure .	500	120	360	72

2. Hundeversuche.

Da bekanntlich die Reaktion verschiedener Tierarten auf das gleiche Cholereticum recht verschieden sein kann, wurden die wichtigsten Substanzen orientierend auch an Hunden geprüft.

Methode. Urethan-Pernocton-Narkose; akute Choledochusfistel mit Unterbindung des Duct. cysticus; die Substanzen wurden intravenös verabfolgt.

Auswertung. Bei 5—6stündiger Registrierung des normalen Gallenflusses (Kontrollversuche) war nur ein geringfügiger Anstieg der Gallensekretion zu erkennen. Die vor Beginn eines jeden Versuches 3 Halbstunden lang beobachtete „Normalsekretion“ war sehr verschieden. Ihr Durchschnittswert (89 Halbstundenwerte bei 28 Hunden) betrug 1,2 ml/30 min (range 0,1—5,7 ml, mittlere Abweichung = 1,217).

Sehr uneinheitlich war bei den verschiedenen Hunden auch die Sekretionssteigerung nach der Injektion der gleichen Substanz: Niedrige Normalwerte ermöglichten eine sehr starke Gallensekretionssteigerung, während bei einer hohen Ausgangsekretion die prozentuale Steigerung nur noch gering war. Als maximale Sekretionssteigerung je Halbstunde ergaben sich z. B. nach:

Dehydrocholsäure	50—100 mg/kg =	3,3—16,6 ml =	260—4750%
Synthobilin	50—100 mg/kg =	1,6— 5,5 ml =	58—2080%
Camphancarbonsäure	50—100 mg/kg =	0,9— 7,8 ml =	37—1040%
Pinancarbonsäure	100 mg/kg =	1,4 ml =	170%
p-Tolylmethylcarbinol.	100 mg/kg =	2,6 ml =	240%
Phenylchinolincarbonsäure. . .	10— 50 mg/kg =	2,0— 4,0 ml =	250—1150%
Sulfarlem	1,5— 3 mg/kg =	1,1— 5,5 ml =	200— 300%
Methoxynaphthoylpropionsäure	15 mg/kg =	1,7 ml =	1080%

Im Gegensatz zu der sehr geringen Gallenwirkung bei der Ratte hatte Phenylchinolincarbonsäure und Derivate eine recht starke Wirkung auf die Gallensekretion des Hundes. Phenylchinolincarbonsäure 100 mg/kg verursachte aber bereits eine akute Leberschädigung des nicht narkotisierten Tieres wie Kontrollen mit dem Bromsulphaleintest zeigten.

Die Beurteilung der absoluten Wirkungsstärke verschiedener Choleretica am Hund ist nur mit einem sehr großen Tiermaterial möglich. Wird bei dem gleichen Tier jeweils die gleiche Dosis zweier Substanzen im Abstand von 3—4 Std gespritzt und das Verhältnis der erreichten maximalen Sekretionssteigerung bestimmt, so zeigt sich Dehydrocholsäure den anderen Substanzen überlegen. Die Wirkung gewichtsgleicher Dosen von Camphancarbonsäure und Synthobilin z. B. war 30—50% schwächer als die der Dehydrocholsäure. Berücksichtigt man aber neben der maximalen *Sekretionssteigerung* die *Wirkungsdauer*, so verursacht Dehydrocholsäure zwar eine starke, aber nur kurzdauernde Cholereese („Stoßwirkung“), Camphancarbonsäure und Synthobilin dagegen bewirken eine viel länger anhaltende Mehrausscheidung von Galle. Während 3—4 Std nach Dehydrocholsäure-Injektion die Sekretion wieder ihren Ausgangswert erreicht hatte, betrug sie bei Camphan- und Pinancarbonsäure oder nach Synthobilin noch 50—100% des Maximalwertes. Die Gesamtausscheidung an Galle war also meist größer als die nach Dehydrocholsäure.

Zur Differenzierung zwischen echter Cholereise und Hydrocholereise wurden die Extinktionswerte der halbstündigen Gallenmengen gemessen. Stets war der Farbstoffgehalt der Sekretionsmenge umgekehrt proportional. Alle untersuchten Substanzen wirken also im wesentlichen hydrocholeretisch.

Diskussion. P. JANSSEN (Turnhout, Belgien): Haben Sie bei Ihren Versuchen beachtet, daß es sich bei den vorgeführten Substanzen in klinischen Versuchen um teils fast rein choleretische bzw. fast rein hydrocholeretische Substanzen handelt?

HILDEBRANDT: Gleiche günstige Wirkung wie die von OETTEL geprüfte Camphencarbonsäure hat auch die Camphancarbonsäure. Meerschweinchen in Urethan-narkose sind gut geeignet, Gallefluß über Stunden konstant.

Schlußwort. FÖRSTER: Unsere tierexperimentellen Ergebnisse an Hunden zeigten bei keiner Substanz eine rein choleretische Wirkung. Stets war eine proportionale Verdünnung des Farbstoffgehaltes festzustellen. Bei den Rattenversuchen wurden keine photometrischen Bestimmungen durchgeführt, jedoch beobachteten wir makroskopisch ebenfalls eine Verdünnung der Galle, wenn ihre Sekretion gesteigert war.

Die von Prof. HILDEBRANDT untersuchte Substanz ist mit der von uns geprüften identisch.

DOROTHEE SCHMIDTKE-RUHNAU (Hannover): Die Beeinflussung der Leberdurchblutung durch „lipotrope“ Stoffe.

Die in letzter Zeit besonders von GUTZEIT geäußerte Annahme, daß die therapeutische Wirkung lipotroper Stoffe bei Leberparenchymschäden zum großen Teil auf einer Steigerung der Leberdurchblutung beruhe, gab Anlaß zu einer experimentellen Untersuchung dieser Stoffe. Wir prüften die Wirkung von Cholinchlorid, Methionin (Acetylmethionin) und zweier, von den Chemischen Werken Minden unter dem Namen Hep-san hergestellter Kombinationspräparate, auf den Kreislauf und die Leberdurchblutung bei insgesamt 50 Hunden in Chloralose-Narkose (0,1—0,11 g/kg, eventuell mit einem Zusatz von Urethan).

Der Blutdruck wurde mit einem Federmanometer nach REIN und HAMPEL registriert, die Durchblutung der A. hepatica und der V. portae (in einzelnen Fällen zum Vergleich auch der A. femoralis) mit einer Thermoströmuhr. Die zu prüfenden Substanzen wurden in RINGER-Lösung gelöst bzw. mit RINGER-Lösung verdünnt und meist als intravenöse Dauerinfusion, gelegentlich auch als Einzelinjektion in die V. femoralis verabreicht. Der Dauerinfusionsapparat war in allen Versuchen so eingestellt, daß in der Minute 0,25 ml RINGER-Lösung einflossen. 10 Hunde erhielten zur Kontrolle nur Infusionen von RINGER-Lösung.

Die geprüften Substanzen kamen in folgender Dosierung zur Anwendung: Cholinchlorid wurde mit einer Geschwindigkeit von 1,775 mg pro Kilogramm in der Minute infundiert. Die Infusionsdauer richtete

sich nach dem Auftreten toxischer Erscheinungen und betrug mindestens 20, höchstens 50 min. Die Hepsanlösung I enthielt in 1 ml 0,3 g acetylmethioninsaures Cholin, entsprechend 0,194 g Acetylmethionin und 0,122 g Cholinbase (= 0,142 g Cholinchlorid). Sie wurde so infundiert, daß je Minute 2,425 mg/kg Acetylmethionin und 1,525 mg/kg Cholinbase (entsprechend 1,775 mg/kg Cholinchlorid) zugeführt wurden. Die Infusionsdauer betrug mindestens 20 und höchstens 80 min.

Die Hepsanlösung II enthielt in 1 ml 0,05 g acetylmethioninsaures Cholin und 0,25 g acetylmethioninsaures Natrium. Sie wurde so infundiert, daß je Minute 1,25 mg/kg acetylmethioninsaures Cholin und 6,25 mg/kg acetylmethioninsaures Natrium zugeführt wurden. Die Infusionsdauer betrug 40 min. Acetylmethionin wurde in einer Dosis von 2,252 mg/kg je Minute infundiert, die Infusionsdauer betrug 80 min.

Es zeigte sich, daß alle geprüften lipotropen Stoffe in der Lage sind, eine deutliche und anhaltende Mehrdurchblutung der Leber hervorzurufen. Diese resultierte in der Mehrzahl der Fälle aus einer Zunahme der Durchblutung in beiden Leberstromgebieten; bei einem Teil der Versuche kam es zu dem auch von SCHWIEGK beschriebenen gegensätzlichen Verhalten der beiden Gefäßgebiete: starke Mehrdurchströmung in dem einen, war von keiner Änderung oder Minderdurchblutung in dem anderen Stromgebiet begleitet.

Die stärksten Mehrdurchblutungseffekte sahen wir beim Cholinchlorid, jedoch zeitigte diese Substanz auch besonders leicht Kreislaufstörungen (Bradykardie, Blutdruckabfall), die mit starken Schwankungen der Leberdurchblutung und auch Minderdurchströmung einhergehen konnten. Die Hepsanlösung I war trotz gleichen Cholingehaltes besser verträglich als Cholinchlorid, die auch hierbei beobachteten Kreislaufstörungen führten seltener zu Verminderung der Leberdurchblutung. Sämtliche Versuche demonstrieren eindringlich, daß bei Infusion dieser stark wirksamen Substanzen eine dauernde, sorgfältige Kontrolle des Kreislaufes nicht entbehrt werden kann. Die Hepsanlösung II (mit geringerem Cholin- und stärkerem Methioningehalt) zeitigte kaum Kreislaufstörungen, führte aber auch nicht zu einer so schlagartigen und starken Mehrdurchblutung der Leber wie Cholin und Hepsan I.

Bei Infusion von Methioninlösung setzte, meist innerhalb von 10 min, eine sehr gleichmäßige und sicher zu erhaltende Steigerung der Leberdurchblutung ein, die in ihrem Ausmaß die nach Cholin und Hepsan I beobachtete nicht ganz erreichte, jedoch kam es auch niemals zu toxischen Erscheinungen von seiten des Kreislaufes.

Bei den Kontrollversuchen mit Infusion von RINGER-Lösung zeigte sich nur eine geringfügige Mehrdurchblutung der Leber, die in allen Fällen erheblich hinter der Wirkung der lipotropen Stoffe zurückblieb.

Die durch die vorliegenden Befunde experimentell erwiesene Steigerung der Leberdurchblutung durch sogenannte lipotrope Stoffe läßt zweifellos den Schluß zu, daß ihre therapeutische Wirksamkeit zum Teil auf diesem Mehrdurchblutungseffekt beruht.

A. ENDERS (Memmingen): Sekretionsbeeinflussung und Ausscheidungsverhältnisse von choleretisch wirksamen Dithiacyclopenthenderivaten.

1947 stellten HALPERN u. Mitarb. fest, daß „Anetholtrithion“ eine choleretische Wirkung besitzt. Ich untersuchte 8 Derivate dieses Stoffes, die im Laboratorium Lüttringhaus, Freiburg, von SCHMIDT und HÜBINGER synthetisiert worden waren.

Bei der Untersuchung der *choleretischen Wirkung* an Katzen erwiesen sich alle 8 Dithiacyclopenthenderivate galletreibend. Der Ersatz des doppelt gebundenen Schwefels am Anetholtrithionmolekül durch aliphatische Säuren führte zu Stoffen von hoher choleretischer Wirkung; die Substitution des Schwefels durch cyclische Radikale zugleich mit einer Veränderung der Methoxyphenyl-Gruppe schwächt die choleretische Wirkung ab. So zeigte von den untersuchten Substanzen ein Brenztraubensäureazinderivat eine doppelt so starke Wirkung als das ursprüngliche Anetholtrithion; umgekehrt hatte ein Cyanfarbstoff aus Sulfophenylcarbonsäure und Dioxyphenyltrithion eine besonders schwache Wirksamkeit.

Die *Ausscheidung* der beiden letzteren Stoffe wurde quantitativ mit Hilfe von UV-Spektren zusammen mit DECKERT untersucht; von der schwach choleretisch wirkenden Substanz wurden nur 3% der eingeführten Menge von der Galle ausgeschieden, während von dem stark wirksamen Brenztraubensäureazinderivat 30% durch die Leber eliminiert wurden.

Diskussion. HALBACH: Dehydrocholsäure und 4-Methoxynaphthoylpropionsäure entfalten an der narkotisierten Ratte bei intravenöser und intraduodener Zufuhr jeweils die gleiche choleretische Wirkung, was gegen eine narkosebedingte Resorptionshemmung spricht.

FÖRSTER: Frage, ob die neuen Dithiacyclopentenderivate bei parenteraler Gabe eine geringere Toxizität aufweisen als das Sulfarben.

BROCK: Frage nach der toxischen Wirkung, da erst nach Kenntnis durch diese Wirkkomponente eine Entscheidung über eine wirkliche Verbesserung für die Therapie möglich ist.

STÜRMER (Berlin): Sind Versuche zur Ermittlung der chronischen Toxizität der Trithione angestellt worden oder bekannt?

OETTEL (Ludwigshafen): Bei der Prüfung auf choleretische Wirkung muß von neuen, eventuell therapeutisch in Frage kommenden Substanzen nicht nur eine Steigerung der Cholerese um 20–50% sondern weit über 100%, beim Hund sogar um 1000% verlangt werden. Anfrage, ob die Trithionderivate bei den Untersuchungen an der Katze mit Standardsubstanzen wie Decholin oder Sythobilin verglichen

wurden und ob die geprüften Produkte choleretisch oder hydrocholeretisch wirken? Hinweis darauf, daß eine intraduodenale Toxizitätsbestimmung in Narkose, wie sie von dem Referenten durchgeführt wurde, sehr wenig über die wirkliche Giftigkeit aussagt.

Schlußwort. ENDERS: 1. Die toxische Wirkung der Anetholtrithionderivate ist 20—40fach größer als die therapeutische. Eine genaue Bestimmung ist wegen der schlechten Löslichkeit nicht durchführbar.

2. Ganz gleich wie sehr die Resorption durch die Narkose beeinflußt wird, spielt dieser Faktor bei Vergleich verschiedener Substanzen keine Rolle.

3. Versuche zur Ermittlung der chronischen Toxizität sind nicht angestellt worden.

D. Demonstrationen.

H. MERCKER und A. SCHMIDT-TAMM (Göttingen), vorgetragen von H. Rohr:
Gerät zur fortlaufenden optischen Registrierung der Pulsfrequenz.

Zur fortlaufenden photokymographischen Registrierung der Pulsfrequenz neben dem Blutdruck und der Durchblutung mit der REINSCHEN Stromuhr wurde ein Gerät entwickelt, bei dem der Ausschlag eines registrierenden Spiegelgalvanometers mit ausreichender Einstellgeschwindigkeit in linearer Beziehung zur Pulsfrequenz steht. Das Gerät ermöglicht die Messung von Pulsfrequenz zwischen 10 und 600 in der Minute.

Durch einen geeigneten Abnehmer wird jeder Puls in elektrische Spannung übergeführt, die elektronisch ausgewertet wird. Jedem Puls wird eindeutig ein Stromstoß bekannter Größe zugeordnet. Die Stromstöße werden in einem Kondensator summiert. Der Entladestrom des Kondensators ist der Pulsfrequenz direkt proportional.

A. FLECKENSTEIN und J. JANKE (Heidelberg): Papierchromatographische Trennung von ATP, ADP und anderen Phosphorsäureestern in Trichloressigsäureextrakten verschiedener Organe.

Adenosintriphosphorsäure (ATP) und Adenosindiphosphorsäure (ADP) waren bisher bei Verwendung der üblichen Hydrolyse-Methode von LOHMANN nicht getrennt faßbar. Diese Schwierigkeiten lassen sich durch Verwendung der Papierchromatographie überwinden. Die neue Methode (FLECKENSTEIN u. GERLACH und FLECKENSTEIN u. JANKE) stützt sich im wesentlichen auf das Verfahren von EGGLESTON u. HEMS. Die Demonstration dient der Erläuterung der einzelnen Arbeitsgänge. Es werden dabei die UV-Aufnahmen von ATP und ADP in 30 Chromatogrammen von Gewebsextrakten (Muskulatur von Fröschen, Kröten, Ratten im kontrahierten und erschlafften Zustand; Erythrocyten der verschiedenen Säugetiere) gezeigt.

Literatur.

EGGLESTON, L. V., u. R. HEMS: *Biochemic. J.* **52**, 156 (1952). — FLECKENSTEIN, A., u. E. GERLACH: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **219**, 531 (1953). — FLECKENSTEIN, A., u. J. JANKE: *Pflügers Arch.* **258**, 177 (1953).

G. BAUMGARTNER, G. GRUPP und S. JANSSEN (Freiburg i. Br.): Automatisch registrierendes Bubbleflow-Meter (BFM).

Wir haben das von SOSKIN 1934 eingeführte BFM mit Photozellen versehen, die eine genaue Messung der Blasenumlaufzeit gestatten. Die

dadurch erzielte Verkürzung der Meßstrecke erlaubt schnelle Durchblutungsänderungen zu registrieren. Außerdem haben wir einen mit einer Schaltuhr gesteuerten elektromagnetischen Blasengeber eingeführt, mit dessen Hilfe in kurzen gleichmäßigen Abständen die Blasen in das Meßsystem geschickt werden können. Beim Vorbeilaufen der Luftblasen an den Photozellen werden diese kurz aufgehellte, die dadurch hervorgerufenen Spannungsimpulse werden einem EKG-Direktschreiber zugeführt und zwar so, daß in das Meßsystem ein- und austretende Blasen genau zu unterscheiden sind. Der Abstand zweier zu einer Blase gehörenden Auslenkungen des Schreibstiftes ist direkt proportional der Blasenumlaufzeit. Aus dieser kann aber nicht ohne weiteres auf die Blutgeschwindigkeit (Menge/Zeit) geschlossen werden. Vielmehr ergeben sich zwischen diesen beiden Geschwindigkeiten Abweichungen bis zu 15% und mehr, je nach dem Absolutbetrag der Blutgeschwindigkeit. Durch eine Eichung des BFM lassen sich jedoch diese Schwierigkeiten leicht umgehen. Dabei zeigt sich auch, daß Änderungen der Viskosität oder der Temperatur nur von geringem Einfluß auf die Lage der Eichkurve sind, so daß das BFM ohne weiteres mit Wasser von Zimmertemperatur geeicht werden kann. Der Fehler der Messung hängt von der Größe der Durchblutung ab, doch beträgt er selbst bei hohen Geschwindigkeiten (150 cm³/min und mehr) nicht mehr als $\pm 3\%$. Genauere Angaben können einer demnächst in diesem Archiv erscheinenden Arbeit entnommen werden.

J. HAMACHER und W. VATER (Köln): Gleichzeitige, laufende Registrierung am Mehrkanaldirektschreiber und Oszillographen, z. B. von arteriellem, venösem und intracardialen Druck zusammen mit EKG oder von Arterien-, Venen- und Liquordruck zusammen mit EEG.

Mit 1 Textabbildung.

Ein von J. HAMACHER und W. VATER angegebenes¹ elektrisches Transmissionsmanometer wird in seinen wesentlichen Komponenten demonstriert:

Übliche Plattenmanometerkapsel und aufgesetzter, käuflicher Amplitudenaufnehmer.

Mit Hilfe dieses Aggregates wird zweierlei vorgeführt:

Druckregistrierung in Verbindung mit einem Klingeltransformator (50 Hz Oszillator) an einem serienmäßigen EKG-Direktschreiber ohne zusätzliche Verstärker.

Die Vorteile der „Amplitudengetreuen Silhouettenschreibung“¹ in Verbindung mit diesem elektrischen System werden erläutert:

¹ Siehe Einzelvorträge.

Sehr einfache Schaltung; Unmittelbarer Anschluß an beliebige EKG bzw. EEG-Geräte oder Oszillographen; Keine zusätzlichen Verstärker; Unabhängigkeit der Auswertung von Schwankungen in der Papierführung des Registriergerätes; Null-Linienunabhängigkeit; Doppelte Anzeigegröße bei gleicher Verstärkung gegenüber üblicher Technik; Speicherung von Druckmessungen auf Magnettonband.

Beim Anschluß desselben Transmissionsmanometers über eine technische Meßbrücke (4 kHz Oszillator) an einen Elektronenstrahloszillographen werden von den zahlreichen zusätzlichen Vorteilen demonstriert:

Höchste Empfindlichkeit; Umschaltbarkeit der Empfindlichkeit in Stufen; Registrierung von Schwingungen bis zu 1000 Hz; Elektrische Nullstellung.

Die exakte Nulleinstellung des Manometers kann sowohl elektrisch, wie auch mechanisch durch Annäherung des Aufnehmersystems an die Membran erreicht werden.

Bei unserem einfachen Verfahren der Speisung aus dem Klingeltransformator bevorzugen wir mechanische Regulierung. Wir bedienen uns einer einfachen Vorrichtung zur Abstandsänderung des Aufnehmers gegenüber der Membran.

Wenn ein Oszillator höherer Frequenz benutzt wird, so ist die elektrische Abgleichung mittels Differentialkondensatoren, nach Amplitude und Phase getrennt, empfehlenswert.

An Hand von vielen Bildern und Kurvenbeispielen wurden die Vorführungen ergänzt und die Qualität, sowie die universelle Verwendbarkeit des Verfahrens in Laboratorium und Klinik demonstriert.

Es wurden unter anderem gezeigt:

Druckablauf im rechten Vorhof eines Hundes unter Amylnitrit (Transmissionsmanometer, Klingeltransformator [50 Hz] Siemens 2-Koffer EKG Baujahr 1930; Lichtschreibung auf Normalfilm bzw. Bromsilberpapier).

Gleichzeitige Druckmessung A. femoralis und Liquor cerebrospinalis mit EKG am Hund unter Adrenalin (Transmissionsmanometer, Klingeltransformator [50 Hz] Schwarzer 4-Kanal EEG Direktschreiber).

Gleichzeitige Registrierung von 5 EEG-Ableitungen zusammen mit einem Druck (Transmissionsmanometer, Klingeltransformator [50 Hz] Schwarzer 6-Kanal EEG Direktschreiber).

Druckablauf in der A. Pulmonalis eines Hundes, Gleichzeitige Registrierung in „Amplitudengetreuer Silhouettenschreibung“ neben der bisher üblichen Schreibung (Transmissionsmanometer, direktanzeigende Meßbrücke mit 4 kHz Oszillator und Demodulator, Elektronenstrahloszillograph mit Registrierkamera, Lichtschreibung auf Bromsilberpapier).

Manschettendruck zur unblutigen Blutdruckmessung am Menschen (Blutdruckmanschette, Transmissionsmanometer, Klingeltransformator [50 Hz], Siemens Cardiostat EKG Direktschreiber).

Unblutige Blutdruckmessung am Carotisschlingenhund (desgl.).

Statische Eichkurven der benutzten Geräte.

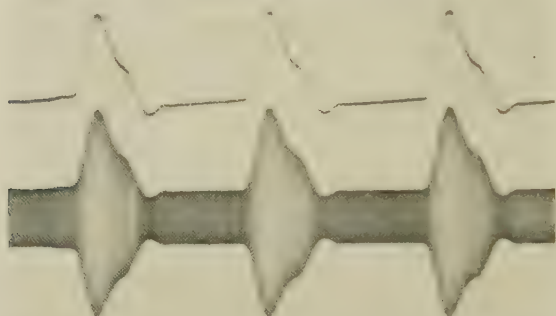


Abb. 1. Intracardiale Druckmessung. Art. Pulmonalis. Hund 20 kg. 4 kHz Oszillator.

Unten: Charakteristisches Bild einer „Amplitudengetreuen Silhouettenschreibung“ bilateral-symmetrisch zur Kurvenmitte. Oben: Aus der unteren Kurve durch Demodulation gewonnen, zeigt die Kurve das gewohnte Bild der bisherigen Druckschreibung.

Technische Daten.

I. Elektrisches System (Amplitudenaufnehmer).

Hersteller: Philips, Eindhoven. Typ: PR 9310 01 (GM 5537). Lieferant: Elektro-Spezial G.m.b.H., Hamburg 11. Preis: DM 550.— (Stand Oktober 1953). Gewicht: 50 g. Länge: 50 mm. Durchmesser: 25 mm. Masse des beweglichen Systems: 1 g. Elastizitätskonstante der Lagerfedern: 150 g/cm. Druck des Aufnahmestiftes gegen die Membranmitte: 20 g. Eichung: auf 1% genau. Amplitudenmeßbereich: 0,1 Mikron bis 1 mm. Frequenzbereich: 0—1000 Hz (bei 4 kHz Träger). Kontaktresonanzfrequenz: 7 kHz bis 10 kHz. Max. zulässige Beschleunigung: 20000 cm/sec². Max. zulässige Temperatur: 70° C. Empfindlichkeitsänderung bei Temperaturschwankungen: um 10° C max. 1%, um 30° C max. 2%. Empfindlichkeit in Abhängigkeit von der Speisung: 50 Hz, 120 mA 0,02 mV für 1 Mikron Kernverlagerung; 4000 Hz 30 mA 0,5 mV für 1 Mikron Kernverlagerung; 10000 Hz 30 mA 1,25 mV für 1 Mikron Kernverlagerung. Max. zulässige Stromstärke: 120 mA. Primärspule. Selbstinduktion: 2,9 mH (bei 4 kHz). Widerstand: 45 Ohm. Spannung über der Spule: etwa 2,75 V (bei 1—30 mA 4 kHz). Sekundärspulen. Selbstinduktion: 8,5 mH (pro Spule bei 4 kHz). Widerstand: 235 Ohm (pro Spule). Spannung über der Spule: 3 V.

II. Mechanisches System (Manometerkapsel).

Als Beispiel: Membranmaterial: Uhrfederstahl hartverchromt. Membranradius: 0,5 cm. Membrandicke: 0,2 mm. Volumenelastizitätskoeffizient E' : $5 \times 10^9 \text{ dyn} \cdot \text{cm}^{-5}$.

III. Kombiniertes Aggregat.

Empfindlichkeit: 100 mmHg = 1 Mikron Verlagerung der Membranzentrum = max. 5 cm Anzeige (50000fache Vergr.). Eigenschwingung: 800 Hz (mit Arterienkanüle), 75 Hz (mit Herzkatheter Charr. Nr. 9). Frequenzgang: linear bis 600 Hz. Eichkurve: linear bis 300 mmHg. Wirksame Masse: 100 (mit Kanüle).

In Verbindung mit einer angepaßten, technischen Meßbrücke ist bis zu 50000fache Vergrößerung der Verlagerung des Meßstiftes in direkter Anzeige und Registrierung möglich.

H. KELLER (Bonn): Elektroschockgerät für Kleintiere mit stufenlos regelbaren Schockzeiten und -strömen.

Es wird ein Gerät beschrieben, das sinusförmigen Wechselstrom liefert, dessen Intensität von 1—100 mA stufenlos regelbar ist. Außerdem kann die Schockdauer von 0,1—1 sec kontinuierlich eingestellt werden.

Da für die Schockwirkung von Wechselströmen außer der Zeitdauer vor allem der Effektivstrom (und nicht die Spannung) direkt maßgebend ist, wurde das Gerät so eingerichtet, daß die Stromstärke an einem eingebauten Zeigerinstrument mühelos eingestellt und abgelesen werden kann. Dabei bleibt die gewählte Stromstärke in weiten Grenzen unabhängig von jeweiligen Widerstand des zwischen den Elektroden angelegten Objektes.

Der Schockstromkreis ist galvanisch vom Netz getrennt. Seine Aus- und Einschaltung erfolgt über Röhrenpentoden, die auch die oben erwähnte Stromkonstanz gewährleisten. Das eingebaute Milliampereometer ist so geschaltet, daß der in der relativ kurzen Schockzeit fließende Strom schon vor dem Versuch und unabhängig von etwa angelegten Elektroden eingestellt und abgelesen werden kann. Doppelbereichsanzeige im Meßinstrument ermöglicht eine genaue Ablesung bei niedrigen und hohen Strömen. Stufenlose Einstellung der Schockzeit erfolgt über ein regelbares Thyatron.

E. GROSS (Bonn): Ein optischer Tropfenzähler.

Das Wesentliche des optischen Tropfenzählers ist der Umstand, daß sich außer dem fallenden Tropfen an dem Zähler selbst nichts bewegt.

Die tropfende Flüssigkeit, die gefärbt oder wasserklar sein kann, tritt aus einer kleinen Metallkanüle geeigneter Weite aus. Die Kanüle ist

auswechselbar und mittels eine Mikroschraube und einer Halteschraube so einstellbar, daß der Tropfen an der richtigen Stelle entsteht. Von einer kleinen Taschenlampenbatterie (6 Volt) wird durch eine kleine Blende ein in seiner Intensität durch einen Drehwiderstand regulierbares Lichtbündel auf eine Photozelle geworfen, die durch das auffallende Licht erregt wird. Am Ende der Kanüle entsteht beim Austritt der Flüssigkeit ein stetig größer werdender Tropfen. Dieser muß genau zwischen Lichtquelle und Photozelle liegen. Hat der Tropfen eine gewisse Größe erreicht, so wird das Licht des Strahles durch den Tropfen so stark geschwächt, bzw. unterbrochen, daß die registrierbare Erregung der Photozelle aufhört. Im Moment des Abreißen des Tropfens tritt die Erregung der Photozelle wieder ein, usw. usw. Der Strom der Photozelle wird in geeigneter Weise verstärkt und registriert.

Es ist klar, daß nur ein Diskontinuum, nämlich das Abreißen des Tropfens bzw. das Anwachsen eines neuen Tropfens auf eine bestimmte immer gleichbleibende Größe registriert wird. Dementsprechend ist die Zählbarkeit der Tropfen bei langsamer Folge nicht begrenzt, bei rascher Folge jedoch dadurch, daß an der Kanüle schließlich nicht mehr Tropfen entstehen, sondern ein das Lichtbündel dauernd unterbrechender Flüssigkeitsstrahl auftritt. Es kann aber an der Registriereinrichtung sofort ersehen werden, ob die Photozelle dauernd (völliges Sistieren des Flüssigkeitsabflusses) oder gar nicht mehr (Flüssigkeitsstrahl) belichtet wird. Durch Wahl geeignet weiter Kanülen läßt sich das Auftreten eines kontinuierlichen Strahles in weiten Grenzen vermeiden.

Der Tropfenzähler arbeitet wegen seiner Einfachheit mit großer Zuverlässigkeit. Eine schöne und gleichmäßige Bildung der Tropfen läßt sich dadurch erzielen, daß man die Mündung der Kanüle mit einem Hauch von Fett überzieht.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN).

Die Anticurarwirkung des Alkohols.

Von

W. RUMMEL und TH. SCHMITZ.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Dezember 1953.)

Bei der Durchsicht älterer Literatur begegnet man Arbeiten, die sich — entweder von wohlwollender Nachsicht oder puritanischer Strenge getragen — mit der Frage beschäftigen, ob Alkohol die Muskulararbeit erhöht. Sicherlich steigert Alkohol, gemessen an der Kontraktionshöhe, die Muskulararbeit (KOCHMANN). Darüber besteht kein Zweifel, aber das geschieht *in vitro* bei Äthanolkonzentrationen, die *in vivo* nicht toleriert werden. Dasselbe trifft für den hier in Betracht gezogenen Spezialfall, die Endplattenwirkung des Alkohols und ihre Natur, zu.

Methode.

Die Versuche wurden am isolierten Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Ratte nach BÜLBRING durchgeführt. Die verwandte Tyrodelösung entsprach den Angaben von TAUGNER und FLECKENSTEIN. Das Volumen der Badeflüssigkeit betrug 30 ml, die Temperatur 38° C. Zur indirekten Reizung wurden rechteckige Impulse von durchschnittlich 2 msec Dauer und einer Stärke von 10—20 Volt dem Reizgerät der Elektromedizinischen Werkstätten Hamburg entnommen. Der Reizabstand betrug 10 sec. Das Gewicht der Tiere lag bei 200 g. Die Ergebnisse fußen auf 40 Versuchen.

Ergebnisse.

BLUME hat schon am Ischiadicus-Gastrocnemius-Präparat des Frosches nachgewiesen, daß Äthanol und andere Narkotica in niederen Konzentrationen erregbarkeitssteigernd wirken und daß sowohl für diese stimulierende wie auch für die lähmende Wirkung höherer Konzentrationen die Endplatte am empfindlichsten ist. Es handelt sich also lediglich um eine Wiederholung und Bestätigung am Warmblüter, wenn wir am Zwerchfell-Phrenicus-Präparat der Ratte zeigen konnten, daß Alkohol auch hier in niederen Konzentrationen die Kontraktionen verstärkt und in höheren vermindert und daß offenbar auch hier die Endplatte besonders empfindlich ist.

Beiläufig haben wir ebenfalls untersucht, ob dabei das Verhalten unter dem Einfluß von Alkoholen mit verschiedener Kettenlänge dem Gesetz der homologen Reihe entspricht. Es fand sich, daß steigernde Effekte (und Kontraktionen) nur mit

Methanol und Äthanol, den beiden niedrigsten Homologen, erzielbar sind. Schon mit Propanol und erst recht mit Butanol lassen sich nur Lähmungen erzeugen, je länger die Kette, desto geringer die benötigte molare Konzentration.

Die Ansprechbarkeit der Endplatte auf Äthanol einerseits und dessen depolarisierende Wirkung andererseits ließen es berechtigt erscheinen zu versuchen, mit Alkohol eine Curarelähmung aufzuheben. Im abgebildeten Versuch (Abb. 1) wurden zunächst verschiedene Alkoholkonzentrationen geprüft. Man sieht wieder, daß niedrige Konzentrationen

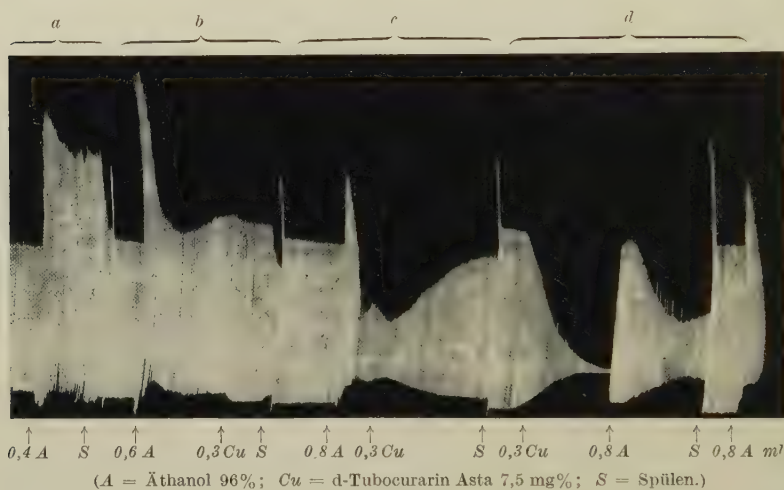
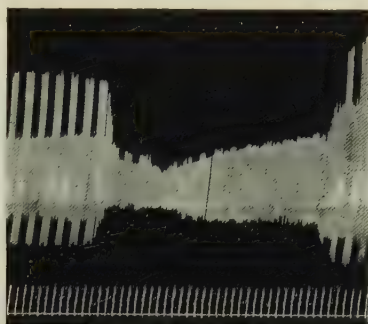


Abb. 1.

(1,28% = 0,4 ml 96% Äthanol in 30 ml) erregend (a) und hohe (2,56% — 0,8 ml 96% Äthanol) lähmend wirken (c u. d). Interessant ist, daß dazwischen eine dem Erscheinungsbild nach ziemlich indifferente Alkoholkonzentration (1,92% = 0,6 ml 96% Äthanol) liegt (b), die hier nur zu einer flüchtigen initialen Steigerung der Einzelzuckungen mit vorübergehender Kontraktur führt, ohne die Kontraktionen weiterhin wesentlich über den Ausgangswert zu erhöhen. Bemerkenswerterweise wirken nun nicht nur — was weniger überraschend wäre — kontraktionssteigernde Alkoholkonzentrationen der Curarelähmung entgegen, sondern auch solche Alkoholkonzentrationen, die für sich allein lähmend sind. Für die Natur der Alkoholwirkung dürfte das aufschlußreich sein. Besonders eindrucksvoll aber wird der Befund in der Gegenüberstellung mit der Beobachtung, daß jene selbst lähmende Curarekonzentration ihrerseits wiederum die Alkohollähmung völlig aufheben kann (c) bzw. nach der indifferenten Alkoholkonzentration 1,92% (0,6 ml 96% Alkohol) nicht zur Wirkung gelangt (b).

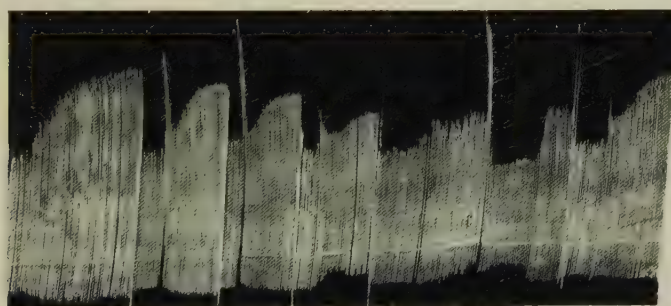
Beruhet dieser Anticurareffekt des Alkohols, wie vermutet, auf seiner depolarisierenden Eigenschaft, dann müßte sich das in einem Vergleich mit dem sicher depolarisierenden Kalium herausstellen. Beide Stoffe wirken in niederen Konzentrationen steigernd und in höheren lähmend auf die Kontraktion und beide lassen sich mit Calcium antagonistisch beeinflussen, wie RIESSER u. SCHEIN am Kaltblütermuskel schon beobachtet haben. Diese Aufhebung der Alkohollähmung durch Calcium konnten wir auch am Rattenzwerchfell zeigen (Abb. 2). Man dürfte deshalb damit rechnen, daß eine allein noch nicht lähmende Alkoholkonzentration und eine allein ebenfalls nicht lähmende Kaliumkonzentration zusammen eine Lähmung bewirken, vorausgesetzt, daß dabei Konzentrationen gewählt wurden, die im Bereich der „indifferenten“ Zone, d. h. den lähmenden Konzentrationen relativ nahe liegen. Tatsächlich läßt sich dann demonstrieren, wie Abb. 3 zeigt, daß eine ursprünglich steigernde Alkoholkonzentration von 1,28% (0,4 ml 96% Alkohol) nach



$J D \quad 0,4 A \quad 2,0 \quad 1,0 Ca \text{ ml} \quad S$
 (A Äthanol 96%; Ca $CaCl_2$ 1,29%;
 S = Spülen.)

Alternierende Reizung: J = indirekt; D = direkt.

Abb. 2.

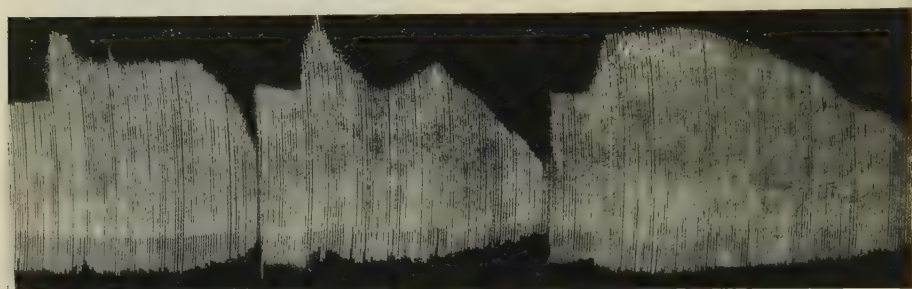


$\uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow$
 $0,2 A \quad S \quad 0,3 \quad S \quad 0,4 \quad S \quad 0,5 \quad S \quad 0,4 \quad 0,4 \quad S \quad 0,4 \text{ ml}$
 $\quad \quad A \quad \quad A \quad \quad A \quad \quad K \quad \quad K \quad \quad A$
 (A = Äthanol 96%; K = KCl 1,22%; S = Spülen.)

Abb. 3.

einer selbst ebenfalls steigernden Kaliumkonzentration von 52 mg% Kaliumchlorid (2 mal 0,4 ml einer 1,22% igen KCl-Lösung zu 30 ml Bade-
 flüssigkeit mit 20 mg% KCl) plötzlich die Kontraktionshöhe vermindert. Abb. 4 gibt ein Beispiel dafür, daß auch das Umgekehrte zutrifft. Eine im Bereich der indifferenten Zone liegende Alkoholkonzentration (2,56%

= 0,8 ml 96% Alkohol wirken bei diesem Präparat noch nicht lähmend), die eine biphasische Wirkung erzeugt — Senkung nach kurzer Steigerung und Wiederaufstieg, ein Effekt, den man bisweilen bei solchen Konzentrationen beobachtet —, wandelt eine selbst steigernde KCl-Konzentration von 52 mg% KCl (0,8 ml) zu einer lähmenden um.



0,7 A 0,8 0,2'' 0,2'' S 0,8 A 0,8 KCl 0,2'' S 0,8 KCl 0,2'' 0,2'' 0,2'' 0,2'' 0,2'' ml
KCl
(A = Äthanol 96%; KCl 1,22%; S = Spülen.)

Abb. 4.

Diskussion.

Es hat sich ergeben, daß auch auf Alkohol, wie in vielen anderen Fällen, die Endplatte im Vergleich zu Muskel und Nerv empfindlicher ist. Am sinnfälligsten wird das durch die Möglichkeit, eine Curarelähmung mit Alkohol wieder aufzuheben¹. Die Tatsache des reciprok antagonistischen Verhaltens beider Stoffe beleuchtet die unterschiedliche Natur ihres Wirkungsmechanismus ganz besonders deutlich.

Die einer Depolarisation entgegengerichtete Wirkung von Curare ist direkt gemessen worden (COWAN). Sie kann aber auch mittelbar nachgewiesen werden, indem man zeigt, daß Stoffe, deren depolarisierende Eigenschaften bekannt sind, wie z. B. Dekamethonium, Kalium oder O₂-Mangel eine Curarelähmung zu beseitigen vermögen (HUTTER und PASCOE; EICHHOLTZ, TAUGNER und DAHM; MAUTNER und LUISADA, dort siehe weitere Literatur). Dabei ist anzumerken, daß der O₂-Mangeleffekt, wie LUISADA schon ausgesprochen hat, wahrscheinlich nichts anderes als ein Kaliumeffekt ist.

Alkohol kommt ebenfalls eine depolarisierende oder kathodische Wirkung auf die Endplatte zu. Das kann man den Befunden entnehmen. Obwohl am Nerven gerade für blockierende Äthanolkonzentrationen von POSTERNAK und Mitarbeitern eine Depolarisation nachgewiesen wurde, so scheint das doch nicht allgemeine Ansicht zu sein; denn z. B. HERGOTT, der übrigens am Froschherzen ebenfalls einen der Alkoholwirkung ent-

¹ Wie K. UNNA bei der 19. Tagung der Dtsch. Pharmakol. Ges. (Göttingen 1952) in der Diskussion berichtete, wurde an der Maus bei Injektion alkoholischer Curarelösungen eine Abschwächung des Curareffektes beobachtet.

gegengerichteten Calciumeffekt festgestellt hat, entnimmt seinen Befunden — da Alkohol wie Adrenalin und Tannin wirkt —, daß auch Alkohol die Membran abdichtet. Diese Deutung ist verständlich, weil üblicherweise für Alkohol als Narkoticum eine membranabdichtende Wirkung angenommen wird (RUMMEL). Der Befund einer Anticurarewirkung reversibel lähmender, mit anderen Worten „narkotisierender“ Alkoholkonzentrationen, spricht gegen diese allgemeine Annahme.

Alkohol hat mit Kalium die bivalente Wirkung gemeinsam, Verstärkung der Kontraktion in kleinen Konzentrationen und Abschwächung in größeren Konzentrationen, eine Eigenschaft, die auch anderen depolarisierenden Stoffen zukommt. Man könnte angesichts des analogen Verhaltens auch daran denken, daß die beobachteten Alkoholeffekte wie die Hypoxiewirkung auf freigesetztem Kalium beruhen, aber dafür fehlen, soweit wir sehen, noch Beweise. Worauf der kontraktions-erhöhende Effekt niedriger Konzentrationen zurückzuführen ist, läßt sich nur vermuten, möglicherweise beruht er auf einer Verbreiterung des Aktionspotentials, wie sie beispielsweise für Adrenalin durch BROWN, BÜLBRING und BURNS nachgewiesen ist. Für Alkohol kennen wir derartige Messungen nicht.

Zusammenfassung.

1. Äthanol und d-Tubocurarin verhalten sich auf Grund ihrer unterschiedlichen Wirkweise an der Endplatte antagonistisch. Eine Äthanolkonzentration, die alleine lähmt, kann den Effekt einer lähmenden Curarekonzentration aufheben und umgekehrt.

2. Äthanol und Kalium in Konzentrationen, die selbst die Kontraktionshöhe nicht vermindern, addieren sich. Dabei kommt es zu einer Abschwächung der Kontraktionen, wie sie durch höhere Äthanol- bzw. Kaliumkonzentrationen alleine ebenfalls bewirkt wird.

Literatur.

- BLUME, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **110**, 46 (1925). — BROWN, G. L., E. BÜLBRING and B. DELISLE BURNS: J. of Physiol. **107**, 115 (1948). — BÜLBRING, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — COWAN, S. L.: J. of Physiol. **88**, 3 (1936). — EICHHOLTZ, F., R. TAUGNER u. H. DAHM: Pflügers Arch. **254**, 513 (1952). — HERGOTT, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **213**, 88 (1951). — HUTTER, O. F., and J. E. PASCOE: Brit. J. Pharmacol. **6**, 691 (1951). — KOCHMANN, M.: Heftter Hdb. Erg.wk. **2** (1936). — MAUTNER, H., and A. LUISADA: J. of Pharmacol. **72**, 386 (1941). — POSTERNAK, J., u. R. MANGOLD: Helvet. physiol. Acta **7**, C 55—56 (1949). — Mecanisme de la Narcose S. 189, 1951. — RUMMEL, W.: Theorie der Narcose in Lehrbuch der Narcose von H. KILLIAN u. H. WEESE, Thieme (im Druck). — SCHEIN, H., u. O. RIESSER: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **177**, 463 (1935). — TAUGNER, R., u. A. FLECKENSTEIN: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **209**, 286 (1950).

Doz. Dr. W. RUMMEL, Pharmakologisches Institut der Universität Düsseldorf.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes.

Curarewirkungen auf das Froschherz und ihre Beeinflussung durch Narkotica (Urethan).

Von

W. HAGER.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Januar 1954.)

Die Ergebnisse der in den vergangenen Jahrzehnten durchgeführten Untersuchungen über eine Curarewirkung auf das Herz waren sehr widerspruchsvoll (MC INTYRE).

Diese Tatsache dürfte wohl auf die früher verwendeten verschiedenartigen Curarepräparate, die zum Teil Beimengungen von atropinartiger Wirkung enthielten, zurückzuführen sein.

Nach der Isolierung des reinen Alkaloids (d-Tubocurarinchlorid) durch WINTERSTEINER und DUTCHER (1943) wurde diese Frage erneut aufgegriffen. MC INTYRE und KING fanden z. B., daß die Freisetzung des Vagusstoffes nach Reizung des Schildkrötenvagus durch d-Tubocurarinchlorid in einer Konzentration, die zur Curarisierung der quergestreiften Muskulatur ausreicht, *nicht* gehemmt wird. Andererseits ist bekannt, daß es einen Curare-Eserin-Antagonismus gibt (ROTHBERGER, BRISCOE, ROSENBLUTH), und daß sehr hohe Dosen Acetylcholin curareartig wirken können.

Daher schien es angebracht, die Frage einer Herzwirkung von Curare erneut aufzugreifen, zumal im Laufe der letzten Jahre eine Reihe neuartiger synthetischer curarisierend wirkender Stoffe hinzugekommen ist, deren zentrale und periphere Wirkung durchaus noch nicht vollständig untersucht ist.

Von besonderem Interesse erschien ferner die Untersuchung der Curarewirkung bei Anwesenheit eines Narkoticums. Es liegen eine Reihe von Beobachtungen vor, daß kleine Konzentrationen indifferenter Narkotica die Empfindlichkeit mancher Organe gegenüber ACh steigern.

So fand RUDOLPH (3) in unserm Institut eine Steigerung der ACh-Wirkung am isolierten Magenring nach Vorbehandlung mit niedrigen Konzentrationen von Urethan (1%), sowie eine Verstärkung und Regularisierung der Autorhythmie des Präparates durch eine solche Vorbehandlung. Bereits früher hatten EMMELIN, PLATTNER und HOU, sowie MORAEUS festgestellt, daß indifferente Narkotica eine Steigerung der Acetylcholinwirkung hervorrufen.

Unter diesen Gesichtspunkten haben wir die Wirkung von d-Tubocurarinchlorid (DTC) und Dimethyl-Tubocurarin-Iodid (MTC), sowie der synthetischen Präparate Flaxedil¹ und Tetraäthylammoniumbromid

¹ Flaxedil vgl. S. 263.

(TEA) auf das an einer STRAUBSchen Kanüle arbeitende isolierte Froschherz mit oder ohne vorherige oder gleichzeitige Einwirkung subnarkotischer Urethankonzentrationen untersucht, und zwar auf Mechanogramm, Elektrogramm, Vagusreizung oder Acetylcholineffekt, sowie unter Atropin- oder Regitingaben¹.

Methodik.

Die Versuche wurden in den Herbst- und Frühjahrsmonaten 1950 und 1951 an mittelgroßen Exemplaren von *R. temporaria* und *R. esculenta* beiderlei Geschlechts bei einer Raumtemperatur von 18—22° C durchgeführt. Die Froschherzen wurden isoliert an einer modifizierten STRAUBSchen Kanüle unter dauernder Durchströmung von 30 Tropfen pro Minute untersucht. Die Vagusreizung erfolgte stets links durch Induktionsströme. Die glucosehaltige Durchströmungsflüssigkeit nach BARKAN-BRÖMSER-HAHN hatte ein p_H von 7,9—8,1.

Es kamen folgende curarisierenden Substanzen² in den angegebenen Konzentrationen zur Anwendung:

1. DTC = d-Tubocurarinchlorid (Intocostrin) $3 \cdot 10^{-7}$ bis $3 \cdot 10^{-4}$.
2. MTC = Dimethyl-Tubocurarin-Iodid (Metubin) 10^{-8} bis 10^{-4} .
3. Triäthyljodid des Tri-(diäthylamino-äthoxy)-1-2-3-benzols (Flaxedil) $2 \cdot 10^{-6}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$.
4. TEA = Tetraäthylammoniumbromid (Tetranium) 10^{-4} bis 10^{-2} .

Die Lösung jedes Präparates wurde in ansteigender Konzentration je 5—10 min unter jedesmaliger Zwischenschaltung einer Periode reiner Nährlösung bzw. Nährlösung mit Urethan der Herzkanüle zugeführt. In gleicher Weise wurde ein Präparat Urethan-Gemisch im Wechsel mit RINGER-Lösung untersucht. Bei zahlreichen Versuchen wurde die *Herzfrequenz* mit dem Zeitordinatenschreiber nach LULLIES registriert. Die *Aktionsströme* des Herzens wurden mit unpolarisierbaren Zn-ZnSO₄ Tonstiefelelektroden abgeleitet und über einen 4-stufigen R-C-Verstärker mit einem Kathodenstrahloszillographen registriert.

V Versuchsergebnisse.

1. Curarewirkung auf Amplitude und Frequenz des Herzens.

a) *Die Wirkung von Intocostrin (DTC) und Metubin (MTC).* Die Ergebnisse der Versuche mit DTC und MTC sind zusammengefaßt in Abb. 1 dargestellt. Die Diagramme zeigen, daß beide Substanzen bei *alleiniger Einwirkung* auf das Herz eine geringe *negativ inotrope* Wirkung haben, die mit steigender Konzentration, d. h. besonders im Bereich zwischen 10^{-5} und 10^{-4} deutlicher wird. Die Verminderung der Hubhöhe erfolgt bei mittlerer Konzentration (10^{-6} und 10^{-5}) allmählich, bei höherer Konzentration (10^{-4}) augenblicklich, wobei dann außer der Systole auch die Diastole vermindert ist. Sehr kleine Konzentrationen von MTC (10^{-8}

¹ Regitin (sympathicolytisch wirkende Substanz): Hydrochlorid des 2(N-p-Tolyl-N-[m-oxy-phenyl]-aminomethyl)-imidazolins.

² Die Firmen: Laboratoires LABAZ-Paris (Intocostrin), LILLY and CO.-Indianapolis (Metubin), SPEZIA-Paris (Flaxedil) und Ets. FUMOUEZ-Paris (Tetranium) stellten uns dankenswerterweise die einzelnen Präparate zur Durchführung unserer Versuche zur Verfügung.

und 10^{-7}) führen jedoch zu einer Vergrößerung der Amplitude, während DTC in diesem Konzentrationsbereich eine relativ stark wechselnde Wirkung zeigt, insofern, als bei 17 Versuchen die Amplitude im Mittel um 2–4% abnahm, in 4 Fällen geringfügig zunahm und 3mal unverändert blieb.

Nach *Vorbehandlung* des Herzens mit einer „unterschwellig“ Konzentration von Äthylurethan (0,01%), die selbst keine Wirkung auf

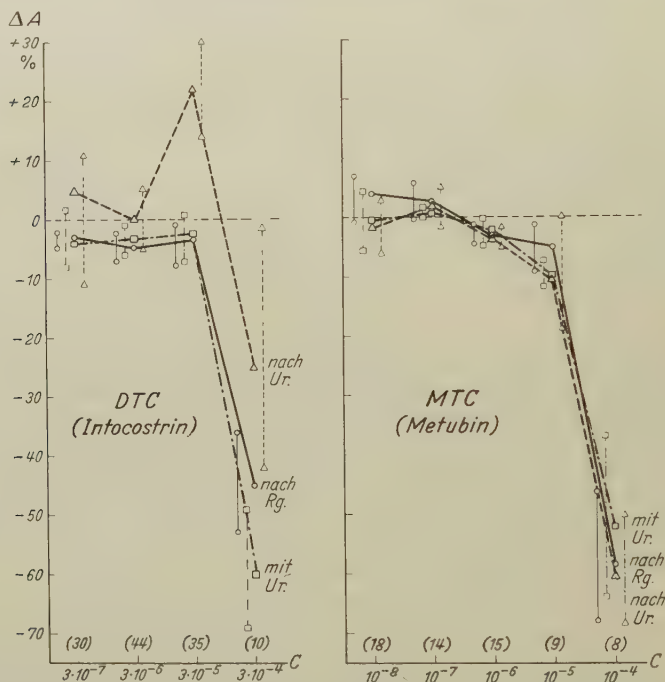


Abb. 1. Die Änderungen der Kontraktionen des Froschherzens unter der Einwirkung von d-Tubocurarinchlorid (DTC) und Dimethyltubocurarinjodid (MTC). — Abszisse: Konzentration. Ordinate: Änderung der Herzamplitude in Prozent der Ausgangsamplitude (geometrisches Mittel). Außerdem sind die mittleren Abweichungen der Mittelwerte mit den entsprechenden Zeichen und die Zahl der gemittelten Beobachtungen (Ziffern in Klammern über den Konzentrationswerten) angegeben. Man sieht bei beiden Curarepräparaten die im allgemeinen negativ inotrope Wirkung, jedoch bei DTC in einem bestimmten Konzentrationsbereich ($3 \cdot 10^{-5}$) nach Urethanvorbehandlung eine deutliche Zunahme der Kontraktionsamplituden.

die Herztätigkeit hat, bewirkt DTC 10^{-7} und 10^{-5} eine *Zunahme* der Amplitude. (Abb. 1) Es zeigt sich also eine Umkehr der Wirkung, wie sie ASHER für eine Reihe von Wirkstoffen unter dem Einfluß oberflächenaktiver Substanzen beobachtet und als „Wirkungswandel“ bezeichnet hat. DTC 10^{-4} führt zu keiner völligen Umkehr, jedoch zu einer Abschwächung des negativ inotropen Effektes, während MTC unter dem Einfluß von Urethan eine Vergrößerung des negativ inotropen Effektes

zeigt. Bei DTC bzw. MTC-Urethangemischen hat das Urethan keinen nennenswerten Einfluß auf die Wirkung der Curarestoffe. Die Herzfrequenz blieb, außer einer deutlichen Herabsetzung bei MTC 10^{-4} , im allgemeinen unverändert (Abb. 2).

b) Die Wirkung der synthetischen Präparate „Flaxedil“ und „Tetranium“ (TEA). Wie wir an anderer Stelle schon kurz berichteten (RUDOLPH und HAGER) bewirken das synthetische Flaxedil und das in höheren Konzentrationen curareartig wirkende TEA stets eine deutliche Zu-

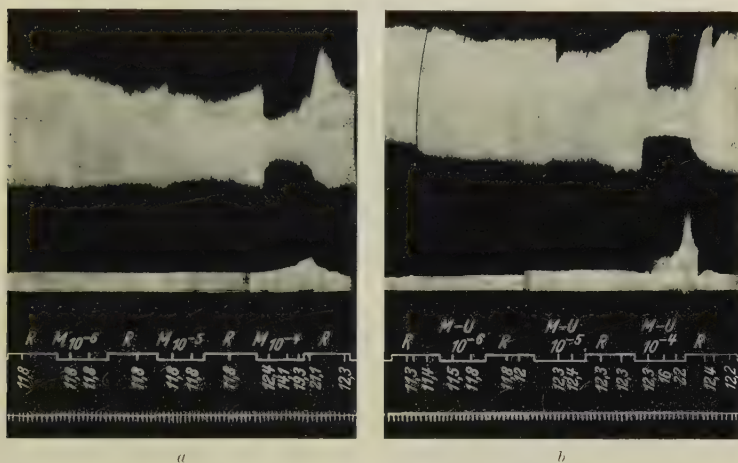


Abb. 2. Wirkung von Dimethyltubocurarinjodid (Metubin) 10^{-6} bis 10^{-4} auf das isolierte Froschherz. — a) MTC allein; b) bei gleichzeitiger Einwirkung mit Urethan 0,01%. Oben: Amplitude der Herzkontraktionen. Unten: Frequenz der Herzkontraktionen. Die Zahlen geben die Dauer von 10 Kontraktionen in Sekunden an. Zeit in Minuten. R RINGER; M Metubin; M-U Metubin und Urethan. — Die Amplitudenänderung beträgt bei den Metubin-Konzentrationen 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} nach RINGER, 6, 9 und 50 %, bei gleichzeitiger Einwirkung von MTC und Urethan 4, 13 und 64 % Metubin 10^{-4} bewirkt unvollständige diastolische Erschlaffung und im Gegensatz zu Flaxedil und TEA eine deutliche Abnahme der Frequenz.

nahme der Amplitude des Froschherzens (Abb. 3). In einigen Versuchen ergab auch schon Flaxedil $2 \cdot 10^{-8}$ einen eindeutig positiv inotropen Effekt. Eine Beeinflussung der Frequenz erfolgte nicht. Bestand zu Beginn des Versuches eine starke Hypodynamie des Herzens, so konnte sie bisweilen durch Flaxedil behoben werden.

Vorausgehende Durchströmung des Herzens mit Urethan 0,01% verstärkte die positiv inotrope Wirkung von Flaxedil und TEA (Abb. 3) durchschnittlich nahezu auf das Doppelte, bei Flaxedil $2 \cdot 10^{-3}$ in einzelnen Fällen auf das 4—5fache der Eigenwirkung dieser Substanz (vgl. Abb. 4). Flaxedil-Urethan-Gemische zeigen eine Amplitudenzunahme, die größtmäßig zwischen der durch Flaxedil allein und der durch Flaxedil

nach Urethanhvorbehandlung bewirkten liegt. Diese Verstärkung der Wirkung von Curarestoffen auf das Froschherz durch eine unterschwellige Urethankonzentration, wäre den bereits erwähnten Beobachtungen von MOERAEUS, PLATTNER u. HOU (s. oben) vergleichbar, die eine Steigerung des ACh-Effektes auf das Froschherz durch unspezifische Narkotica fanden.

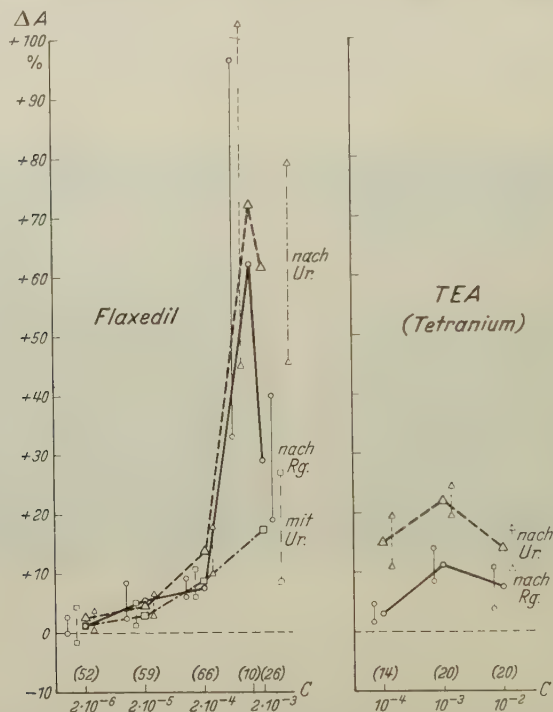


Abb. 3. Die Änderung der Kontraktionen der Froschherzens unter der Einwirkung von Flaxedil und Tetraäthylammoniumbromid. — Abszisse: Konzentration. Ordinate: geometrische Mittel der Amplitudenänderungen in Prozent der Ausgangsamplitude. Außerdem sind wie in Abb. 1 die mittleren Abweichungen der Mittelwerte mit den entsprechenden Zeichen und die Zahl der gemittelten Beobachtungen (Ziffern in Klammern über den Konzentrationswerten) angegeben. Man sieht eine deutlich positiv inotrope Wirkung bei allen Konzentrationen. Nach Urethanhvorbehandlung wird dieser positiv inotrope Effekt verstärkt und zwar besonders deutlich im Konzentrationsbereich von 10^{-4} bis 10^{-3} .

Die statistische Behandlung der Beobachtungen mit Hilfe des t -Testes (siehe z. B. WEBER) für kombinierte Wertepaare ergab in allen Fällen eine befriedigende Sicherung der beobachteten Amplitudenänderungen. Nur in den höchsten Flaxedil-konzentrationen (1 bis $2 \cdot 10^{-3}$) bei denen in einigen Versuchen gerade die eindrucksvollste Zunahme der Amplituden, in anderen aber auch bereits offensichtliche Schädigungen der Herzen beobachtet wurden, war eine solche Sicherung bei Mittelung der stark streuenden Ergebnisse nicht zu erreichen. Eine sehr gute Sicherung ($t = 3,17$ und $P = 0,01$) wurde aber auch für Flaxedil $1 \cdot 10^{-3}$ und $2 \cdot 10^{-3}$ erhalten, nachdem diejenigen Versuche, die deutliche Anhaltspunkte für eine derartige Herzschildigung ergaben (Rhythmusstörungen, Periodenbildungen) eliminiert waren.

2. Curarewirkung auf das Elektrokardiogramm des Froschherzens.

Zu diesen Versuchen wurde das den natürlichen Curarepräparaten nahestehende MTC, von den synthetischen das Flaxedil benutzt.

Die Ableitung der Aktionsströme des Herzens erfolgte:

1. vom Herzen an der STRAUBSchen Kanüle;
2. vom Herzen, das in eine Paraffinwanne gelegt wurde, die abwechselnd mit Nährlösung oder der jeweilig zu untersuchenden Curaresubstanz gefüllt war;

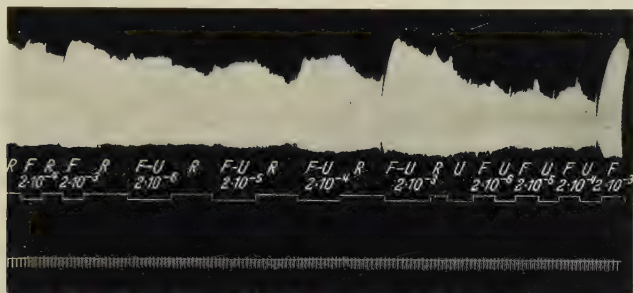


Abb. 4. Wirkung von Flaxedil $2 \cdot 10^{-6}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$ auf das isolierte Froschherz. — R RINGER; F Flaxedil; U Urethan (0,01%); F-U Flaxedil mit Urethan. Zeit in Minuten. — Flaxedil hat durchweg eine positiv inotrope Wirkung. Die Amplitudenzunahme beträgt bei den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-4}$ und $2 \cdot 10^{-3}$: 3% bzw. 18%, bei gleichzeitiger Einwirkung von Flaxedil und Urethan: 37 bzw. 47%, nach Vorbehandlung mit Urethan: 12 bzw. 140%. Dabei ist die jeweilige Ausgangsamplitude = 100% gesetzt. Bei geringeren Konzentrationen ($2 \cdot 10^{-5}$ und $2 \cdot 10^{-6}$) bleibt die Amplitude unverändert oder nimmt nur geringfügig zu. Bei der Prüfung der Urethanwirkung befindet sich hier das Herz bereits in einem deutlich hypodynamen Zustand, in dem ohnehin eine stärkere Flaxedilwirkung zu beobachten ist.

3. mit einer Fernelektrode (nach ROTHSCHUH und SCHÜTZ) vom Rande einer mit RINGER-Lösung durchtränkten Kreisscheibe von Filtrierpapier auf der sich das Herz befand und von einem Punkt der Herzkammer.

Bei Verwendung der Paraffinkammer kam es in einigen Versuchen zu einem Ausfall der Kammerkontraktionen und des Kammerkomplexes im EKG bei Fortdauer des Sinogramms. Die Ursache hierfür dürfte in dem Fehlen eines gewissen Herzinnendruckes und des damit verbundenen Dehnungsreizes bei gleichzeitiger Anoxie zu suchen sein.

MTC beeinflusst in kleinen und mittleren Konzentrationen (10^{-6}) die Aktionsströme des Herzens nicht (6 Versuche). MTC 10^{-4} (6 Versuche) führt jedoch bereits nach 2—3 min zur Abflachung des Kammerkomplexes, nach weiteren 1—2 min zur Frequenzabnahme und schließlich zum *Ausfall* des Kammerkomplexes. Das Sinogramm bleibt weiterhin erhalten. Die Abflachung des Aktionsstromes der Kammer und schließlich der restlose Ausfall lassen annehmen, daß es sich um eine Herabsetzung der Erregbarkeit der Kammer handelt. Gegen eine Beeinflussung der Erregungsleitung spricht der zeitlich gleichförmige Ablauf der Aktionsströme und das Fehlen jeglicher Blockbildung.

Flaxedil ($2 \cdot 10^{-6}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$) läßt das normale Aktionsstrombild des Froschherzens unbeeinflusst (6 Versuche). Ein Herzstillstand und Ausfall der Aktionsströme der Kammer oder sogar des Venensinus in der Paraffinkammer konnte durch *Flaxedil* mittlerer Konzentration zeitlich begrenzt behoben werden (Abb. 5). Es setzt also im Gegensatz zu MTC die Automatie wieder in Gang. Die Erregungsleitung blieb auch durch *Flaxedil* unbeeinflusst.

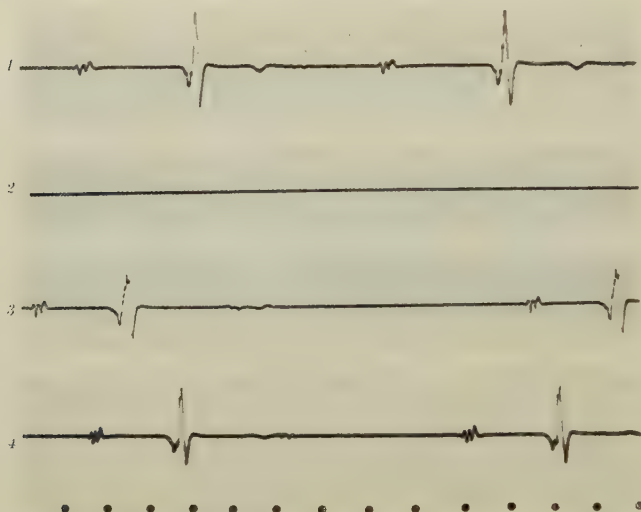


Abb. 5. Beeinflussung der Aktionsströme des Froschherzens durch *Flaxedil* $2 \cdot 10^{-4}$. — 1. Normales Aktionsstrombild bei Ableitung aus der Paraffinwanne (s. Text). 2. Nach 20 min spontaner vollständiger Ausfall der Aktionsströme (Inaktivierung des Herzens vielleicht durch Sauerstoffmangel und infolge fehlender Ventrikelfüllung). 3. Wiederauftreten der Aktionsströme bei sonst gleichen Bedingungen 2 min nach Anwendung von *Flaxedil* $2 \cdot 10^{-4}$. 4. Nach 5 min weitere Normalisierung des EKG. Leichte Zunahme der Frequenz. Unten: Zeitmarken $\frac{1}{5}$ sec.

3. Curarewirkung und Herznerven.

Die bisherigen Ergebnisse ließen die Frage aufwerfen, inwiefern an dem durch Curare bedingten Effekt eine Beeinflussung des autonomen Nervensystems oder seiner Vermittlersubstanzen beteiligt ist. Zur Klärung dieser Frage wurden die im folgenden beschriebenen Versuche durchgeführt.

a) *Curare und elektrischer Vagusreiz*. Als Schwellenreiz wurde ein Reiz von 20 Einzelinduktionsschlägen in 5 sec angenommen, der zu einem vorübergehenden Herzstillstand von maximal 15 sec Dauer führte. DTC $3 \cdot 10^{-7}$ und $3 \cdot 10^{-6}$ bewirkte praktisch keine Veränderung dieses Reizerfolges. Erst bei DTC $3 \cdot 10^{-5}$ wird die Schwelle in geringem Maße erhöht. Der negativ inotrope Effekt des Schwellenreizes bleibt in allen

untersuchten Konzentrationen ($3 \cdot 10^{-7}$ bis $3 \cdot 10^{-4}$) wirksam. Wirken DTC und Urethan in den angegebenen Konzentrationen gleichzeitig, so bleibt die Reizschwelle ebenfalls unverändert.

b) *Curare und Acetylcholin.* Die Schwellenkonzentration von ACh, d. h. die Konzentration, die einen kurzdauernden, aber deutlich negativ inotropen Effekt auslöst, wird durch DTC $3 \cdot 10^{-7}$ nicht wesentlich verändert. Lediglich der Zeitpunkt des Eintritts der maximalen Wirkung wird durch Curare hinausgeschoben und ihre Dauer verkürzt. Das Ausmaß der Verschiebung hängt dabei von der Curare-Konzentration und der Dauer ihres Einwirkens ab und kann maximal (bei DTC $3 \cdot 10^{-5}$) das Dreifache des Ausgangswertes in RINGER betragen.

c) *Curare bei Hemmung der Vermittlersubstanzen des autonomen Nervensystems.* Atropin 10^{-8} bewirkt einen geringen Anstieg der Amplitude des Herzens. Bei nachfolgender Einwirkung eines Curare-Atropin-Gemisches (Flaxedil $2 \cdot 10^{-4}$ und Atropin 10^{-8}) zeigt sich ein zusätzlich positiv inotroper Effekt, der sowohl in seinem Verlauf, als auch in seiner Größe demjenigen der Flaxedil-Eigenwirkung entspricht.

Ebenso zeigt sich bei der Anwendung von Regitin 10^{-6} (s. S. 263), einem „ganglionic blocker“ mit adrenolytischer und sympathicolytischer Wirkung, daß auch durch die Ausschaltung sympathisch wirkender Stoffe keine Veränderung der Curarewirkung auf das Herz eintritt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß Curare und curareartige Stoffe in Konzentrationen, wie sie an der motorischen Endplatte wirksam sind (s. unten), eine Veränderung der Kontraktilität des isolierten Froschherzens bewirken. Frequenz und „Tonus“, d. h. das Ausmaß der diastolischen Erschlaffung bleiben dabei — mit Ausnahme von MTC in hohen Konzentrationen — unbeeinflusst.

Die in unserem Institut in anderem Zusammenhang am Froschsartorius in vitro angestellten Versuche ergaben folgende wirksame Konzentrationsbereiche:

	Beginn der Wirkung	deutliche Wirkung	vollständige Lähmung
DTC. . . .	$1,5 \cdot 10^{-7}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$ in 3 min
MTC . . .	$1,5 \cdot 10^{-5}$	—	$1 \cdot 10^{-4}$
Flaxedil . .	10^{-7}	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$ in 3 min
TEA . . .	$1 \cdot 10^{-4}$ Erregung	$1 \cdot 10^{-3}$ Erregung	$1 \cdot 10^{-2}$

Die Frage des Wirkungsmechanismus läßt sich auf Grund des vorhandenen Versuchsmaterials nicht ohne weiteres entscheiden. Ein Einfluß des Curare auf die intrakardialen autonomen Nerven oder ihrer Vermittlersubstanzen scheint nach unseren Versuchen keine Rolle zu spielen.

Anhaltspunkte für ein Verständnis der Curarewirkung auf das isolierte Froschherz geben vielleicht — wie schon RUDOLPH (1) genauer dargestellt hat — neuere Beobachtungen, die vor allem von LORENTE DE NÔ am Nerven gemacht wurden. Nach ihm ist es möglich, die durch N-Entzug in Verlust geratene Erregbarkeit des Nerven durch gewisse quaternäre Ammoniumionen wiederherzustellen, wobei es durch diese Ionen zu einer Erhöhung des Membranpotentials kommt. Die verschiedenen quaternären Ammoniumbasen besitzen diese Eigenschaft allerdings in sehr verschiedenem Maße und es gibt Substanzen, die trotz naher chemischer Verwandtschaft die Erregbarkeit unbeeinflusst lassen, oder in umgekehrtem Sinne beeinflussen. Ein Einfluß quaternärer Ammoniumbasen auf das Membranpotential quergestreifter *Muskelfasern* konnte auch direkt nachgewiesen werden (BURNS, PATON u. DIAS).

Geht man von der Vorstellung aus, daß das Membranpotential der einzelnen Myocardfasern durch die Versuchsbedingungen oder auch durch Anoxie eine partielle Verminderung erfährt, was durch die Untersuchungen am EKG als wahrscheinlich erscheint, so ist es durchaus möglich, daß durch die verschiedenen quaternären Ammoniumbasen auch eine Beeinflussung des Membranpotentials der Myocardfasern erfolgt, zumal durch Untersuchungen von TRAUTWEIN u. ZINK, sowie von CORABOEUF u. WEIDMANN eine weitgehende Parallelität zwischen den Eigenschaften des Membranpotentials einzelner Myocardfasern und der Nervenfasern nachgewiesen werden konnte.

So dürften Flaxedil und TEA eine Repolarisierung und eine dadurch bedingte Normalisierung der Erregbarkeit bewirken, die zu einem positiv inotropen und positiv bathmotropen Effekt führt. Diese Anschauung wird unterstützt durch das Verhalten der Aktionsströme nach Anwendung von Flaxedil bei einem leicht geschädigten Herzen. Flaxedil verstärkte hier die Amplitude des Elektrosinogramms bis zu einer Größe, die offenbar wieder ausreicht, um den AV-Knoten erneut zu erregen, so daß es wieder zu einer Ventrikelkontraktion kommt. Im Gegensatz hierzu könnte durch DTC und MTC das Membranpotential eine weitere Reduktion, die Membran eine Depolarisierung erfahren, die sich in einem negativ inotropen und negativ bathmotropen Effekt äußert.

Untersuchungen von RUDOLPH (2) über das Verhalten des Membranpotentials des isolierten Nerven können diese Auffassung stützen. Er fand eine Erhöhung des Membranpotentials durch Flaxedil $2 \cdot 10^{-3}$, bzw. eine partielle Repositivierung durch Flaxedil nach vorangehender Negativierung des Nerven durch isotonische Natriumphosphatlösung.

Die *Verstärkung* der Curarewirkung durch Urethan war im allgemeinen größer nach *Vorbehandlung* des Herzens mit diesem indifferenten Narkoticum, als bei *gleichzeitiger* Einwirkung von Curare, vielleicht weil bei der Vorbehandlung eine optimale — sehr geringe — Urethankonzen-

tration durchschritten wurde, die bei gleichzeitiger Einwirkung beider Substanzen nur zufällig getroffen wird.

Die Ursache für das Zustandekommen der verstärkenden Wirkung des Urethans dürfte in der Oberflächenaktivität dieser Substanz zu suchen sein, oder, wie EMMELIN annimmt, in einer Veränderung der „spezifischen Rezeptoren“ selbst. Andererseits weiß man, daß auch Narkotica das Membranpotential von Nerven- und Muskelfasern beeinflussen können. Ihre narkotische Wirkung beruht mindestens zu einem Teil darauf, daß sie die atmungskatalytischen Prozesse, die die entscheidenden Potentialdifferenzen an den Grenzflächen aufrecht erhalten, hemmen, zu einem anderen Teil darauf, daß sie den Prozeß, der das Zusammenbrechen des Potentials bei der Erregung katalysiert (bei dem vielleicht das ACh eine Rolle spielt), beeinflussen.

Gerade beim Urethan konnte in unserem Institut gezeigt werden, daß es am peripheren Nerven in sehr kleinen Konzentrationen eine Steigerung der elektrischen Erscheinungen bei der Erregung bewirkt (RUDOLPH¹). So würde das Gemeinsame, was die Wirkung der Curare-substanzen mit der des Urethans und ähnlicher Stoffe verknüpft und eine Förderung wie auch eine gegenseitige Hemmung verständlich machen könnte, in ihrer Wirkung auf das Potential an den entscheidenden Grenzflächen zu sehen sein.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung von d-Tubocurarinchlorid (DTC), Dimethyltubocurarinjodid (MTC), Flaxedil und Tetraäthylammoniumbromid (TEA) auf das isolierte Froschherz, sowohl bei alleiniger Einwirkung dieser Substanzen, als auch bei gleichzeitiger und vorausgehender Anwendung subnarkotischer Urethankonzentrationen untersucht. Es ergab sich:

1. DTC und MTC hatten eine geringe *negativ* inotrope Wirkung, Flaxedil und TEA einen deutlich *positiv* inotropen Effekt. Alle Substanzen, mit Ausnahme von MTC, beeinflussten weder Herzfrequenz noch das Ausmaß der diastolischen Erschlaffung.

2. Durch subnarkotische Urethankonzentrationen wurde der positiv bzw. negativ inotrope Effekt zum Teil beträchtlich verstärkt. Bei DTC führte die Urethanvorbehandlung zu einer Umkehr des ursprünglich negativen in einen positiv inotropen Effekt („Wirkungswandel“).

3. Die Aktionsströme des Herzens wurden durch MTC in bestimmter Konzentration (10^{-4}) vermindert bzw. ganz aufgehoben, Flaxedil, das die Aktionsströme eines normal arbeitenden Herzens unbeeinflusst läßt, bewirkte dagegen bei geschädigten Herzen eine zeitlich begrenzte Wiederherstellung des Elektrokardiogramms.

Die Frage einer Beeinflussung des Membranpotentials der Myocardfasern sowohl durch Curare als auch durch kleine Urethankonzentrationen wird erörtert. Ein Einfluß des Curare auf die intrakardialen autonomen Nerven oder ihrer Vermittlersubstanzen erscheint nicht wahrscheinlich.

Literatur.

- ASHER, L.: Der Wirkungswandel neurovegetativer Arzneimittel. Bern 1941. — BARKAN, G., PH. BRÖMSER u. A. HAHN: Z. Biol. **74**, 1 (1922). — BRISCOE, G.: J. of Physiol. **87**, 1 (1936); **87**, 425 (1936). — BURNS, B. D., W. D. M. PATON u. M. V. DIAS: Arch. Sci. physiol. **3**, 609 (1949). — CORABOEUF, E., et S. WEIDMANN: C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 1329 et 1360 (1949). — EMMELIN, N.: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **83**, 69 (1939). — LORENTE DE NÔ, R.: J. Cellul. and Comp. Physiol. **33**, Suppl. (1949). — LULLIES, H.: Pflügers Arch. **241**, 354 (1938). — MCINTYRE, A. R.: Curare. Chicago 1947. — MCINTYRE, A. R., and R. E. KING: Federat. Proc. **3**, 81 (1944). — MORAEUS, B.: Uppsala Läk.för. Förh. **42**, 209 (1936). — PLATTNER, F., u. C. L. HOU: Pflügers Arch. **225**, 686 (1930). — ROSENBLUETH, A.: Cold Spring Harbor Symp. Quart. Biol. **4**, 132 (1936). — ROTHBERGER, J. C.: Pflügers Arch. **87**, 117 (1901). — ROTHSCHUH, K. E., u. E. SCHÜTZ: Klin. Wschr. **1947**, 673. — RUDOLPH, G.: (1) C. r. Soc. Biol. (Paris) **146**, 721 (1952). — (2) Ann. Univ. Saraviensis, Saarbrücken (Med.) **1**, 102 (1953). — (3) Nicht veröffentlicht. — RUDOLPH, G., et W. HAGER: C. r. Soc. Biol. (Paris) **146**, 716 (1952). — TRAUTWEIN, W., u. K. ZINK: Pflügers Arch. **256**, 68 (1952). — WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Jena 1948. — WINTERSTEINER, O., u. J. D. DUTCHER: Science (Lancaster, Pa.) **97**, 467 (1943).

Dr. W. HAGER, Düsseldorf-Gerresheim, Unter den Eichen 74.

Department of Pharmacology and Department of Anatomy,
Medical School, University of Birmingham, Great Britain.

Liver Function and Hepatic Necrosis due to Deficient Diet.

Von

N. D. AHMAD and K. ATERMAN.

With 4 figures in the text.

(Eingegangen am 28. Dezember 1953.)

One of the most characteristic features of the experimental production of hepatic necrosis, due to deficient diet, in rats is the suddenness with which death occurs in seemingly normal animals which had been fed the "necrogenic" diet for a varying period of time without any apparent ill effects (ABELL, BEVERIDGE, and FISHER, 1950; DOBBERSTEIN and HOCK, 1944; GOETTSCH, 1951; GYÖRGY, 1950; HIMSWORTH and GLYNN, 1944/45; SCHWARZ, 1944, 1950, 1951). "Animals active and well in the morning may be dead in the evening" (HIMSWORTH, 1950). HIMSWORTH (1950) has drawn attention to the fact that "... this clinical course is remarkable in several ways. First, there is the long latent period during which the animal, although exposed to conditions necessary to produce illness, remains apparently healthy. Second, there is the nature of the illness which appears without any alteration in environment, without any warning, and with a suddenness which is not normal in deficiency states." The few attempts which have been made to detect functional disturbances of the liver during this latent period have not been successful (HOFFBAUER, 1950), thus supporting the assumption of HIMSWORTH (1950) that, until a fatal degree of depletion of essential nutrients is reached, the "... liver cells function normally." In the present paper an experiment will be reported which shows that this may not be the case, at least as far as the excretion of bromsulphalein is concerned.

Methods.

30 male albino rats of an inbred strain used in the Department of Anatomy were fed the "necrogenic yeast diet" of LINDAN and HIMSWORTH (1950). At the beginning of the experiment the weight of the animals ranged from 117 to 154 grams (average 127.2 grams). Throughout the experiment they were kept in individual cages with raised screen bottoms in a room with a fairly constant temperature of 70° F, and were offered daily 8 grams of the diet; the amount of food left over or spilled was weighed the following morning. Body weights were recorded twice weekly.

Nine animals died spontaneously or had to be killed when moribund on the 27, 28, 32, 42, 45, 47, 49, 54 and 58th day of the experiment before their liver function could be assessed. Since hepatic necrosis was found to be present in all these rats, the

first liver function test was performed in the surviving 21 rats after they had been on the experimental diet for 37 to 64 days. The method used has been described by AHMAD and FRAZER (1952) and consists, briefly, in the intravenous injection of 25 mg. of bromsulphalein sodium per kilogram of body weight and in the determination of the amount present in the bloodstream exactly 30 minutes later. An additional 9 animals died or were killed in extremis 2, 13, 14, 16, 19, 21, 21, 23 and 24 days after their bromsulphalein excretion had been tested for the first time on the 61, 55, 64, 54, 60, 54, 59, 54 and 60th day of the experiment. Autopsy again showed hepatic necrosis to be present. 36 to 38 days after the first liver function test the second bromsulphalein retention test was undertaken in the remaining 12 animals, which were then killed by exsanguination under light ether anaesthesia either immediately afterwards or 24 hours later; this time interval was allowed to lapse in order to see if the withdrawal of blood necessary for the test had produced any morphological changes in the liver. 6 normal animals, fed throughout the experiment a restricted amount of the stock rat cake diet, were treated in exactly the same manner and were used as controls.

For histological purposes representative pieces were taken from each of the major lobes of the liver and fixed in 10% Formol-saline and or in GENDRE's fluid. Small pieces of the liver of animals in which the second liver function test was performed were in addition frozen-dried by the method of ALTMANN—Gersh by rapid immersion in isopentane at -150°C and by drying in vacuo at about -30°C (GERSH, 1948). 5—7 μ sections were stained with Haematoxylin-Eosin and, when considered necessary, with the Mallory-Azan stain for connective tissues, the Sudan Black stain for lipids, the periodic acid-leucofuchsin stain for glycogen and other polysaccharides, the phloxin stain of LENDRUM (1947) for inclusion bodies, and the Prussian blue reaction for iron-containing pigment.

Results.

Each animal at first sustained a rapid loss of weight which was followed by a slow, gradual recovery; towards the end of the experiment, however, the weight curve again tended to decline (Fig. 1). Only a few animals reached a slightly higher weight in the course of the experiment than their initial weight; most animals barely regained their starting weight. With the exception of occasional bouts of 1—2 days duration during which an animal would leave 2—3 grams of its ration in the feeding jar, the whole amount of food offered daily was eagerly consumed. Apart from a distinct dryness of the fur, and the depigmentation of the upper incisors described in tocopherol deficient rats by GRANADOS and DAM (1945a, b), HOVE (1946, 1949/50), CHRISTENSEN and DAM (1951), AAES-JØRGENSEN, DAM and GRANADOS (1951), and DAM and GRANADOS (1951), no gross abnormality either in the appearance or in the behaviour of the experimental animals could be observed until about 24 to 48 hours before death. The animal would then refuse food, sit apathetically in the cage, feeling flabby and cold to the touch; respiration was shallow and rapid or occasionally gasping, movements were weak and uncertain, and death was not infrequently preceded by generalised convulsions. One rat showed for 48 hours before death the persistent priapism described by SÓOS, KEMÉNY

and SCHNELL (1953) in rats fed diets deficient in methionine, and by ERSHOFF (1951) and ATERMAN and GREENBERG (1952) in rats treated with cortisone.

The macroscopic and microscopic appearance of the liver of those animals that died of hepatic necrosis before the completion of the experiment corresponded so closely to the description given by GLYNN and HIMSWORTH (1944) and ABELL, BEVERIDGE and FISHER (1950), that

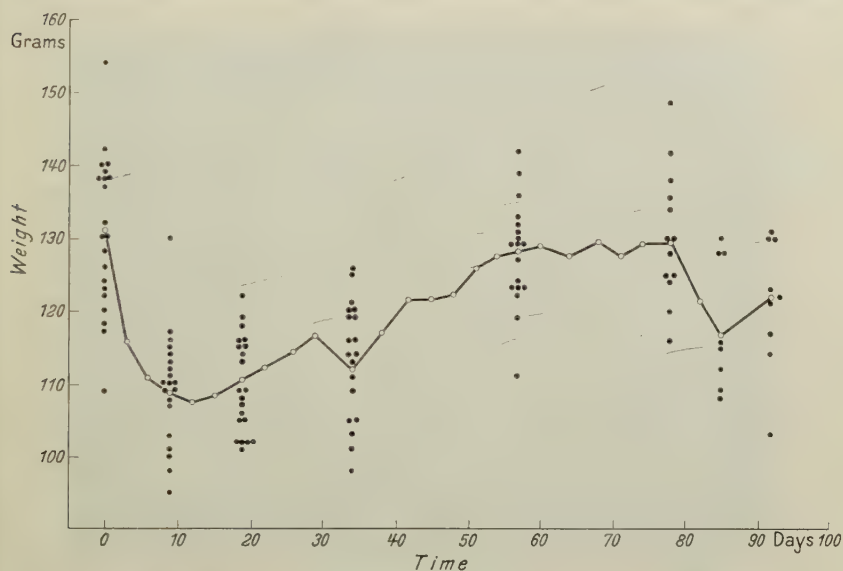


Fig. 1. The average weight curve of rats on the "necrogenic yeast diet" with scatter of individual values (•).

only some salient features will be pointed out. The necrosis was always of the "partial type" described by HIMSWORTH and GLYNN (1944/45), areas of seemingly normal parenchyma separating areas of destruction. The predilection of the lesions for the left lobe of the liver, stressed by HIMSWORTH and GLYNN (1944) and by ABELL et al (1950) was not very pronounced in the present series. Microscopically a distinct zonal arrangement of the lesions within the liver lobules was noted in some animals; with one exception, in which the periportal cells were the seat of the lesion, necrosis was not infrequently present around the central hepatic veins and their branches. Numerous mitotic figures were found in the intact liver cells if the animals had survived for at least 24 hours. Evidence of "postnecrotic scarring" was present in one animal, marked proliferation of the sinusoidal cells was noted in 2 others. A fine vacuolation could be observed in the cytoplasm of many cells which had escaped destruction. These vacuoles appeared empty in sections stained with haematoxylin-eosin and with

the periodic acid-leucofuchsin stain, and were presumably due to fatty infiltration. In addition, however, another type of vacuolation could be distinguished in some surviving liver cells of 3 animals, appearing as round or oval inclusion bodies which stained brightly with eosin or with Lendrum's phloxin stain. Their intense reaction with the periodic acid-leucofuchsin stain (Fig. 2) suggests a similarity with the "watery vacuolation" described by ATERMAN (1952), which in turn has been considered

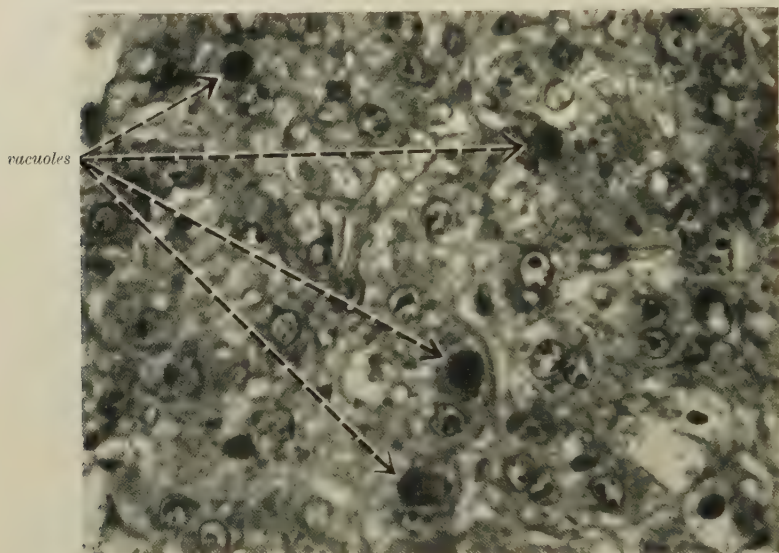


Fig. 2. Rat No. 14. "Watery vacuolation" in the liver cells of a rat with partial hepatic necrosis. — Gendre's fixative; 7 μ , Periodic acid-leucofuchsin stain, $\times 400$.

to be identical with the vacuolation observed in anoxic states by PICHOTKA (1942), TROWELL (1946), ALTMANN (1949) and HANZON (1952).

The result of the liver function tests is shown in Table 1. Compared with the normal controls whose bromsulphalein retention ranged from 3.19% to 6.81% (average 5.43%), practically every experimental animal showed a variable degree of impairment already in the first test. The severity of damage could not be correlated with the length of time during which the animal had been fed the deficient diet. Rat No. 2, for instance, retained only 11% of the given dose after 64 days, whereas in rat No. 4 the impairment after 61 days amounted to 100%. If however, the results of the 1st test in individual animals are compared with those of the 2nd test 36—38 days later, it becomes apparent that in most animals the degree of liver damage tended to increase with the passing of time: in only one rat was there a slight improvement of the bromsulphalein excretion; in 2 others there was virtually no change; in the remainder the excretion of

the dye had significantly deteriorated, even if the high value observed in animal No. 27 is not included in the assessment of the results. (Owing to a technical error the 2nd test had to be repeated in this animal an hour later, so that the possibility of a circulatory embarrassment as the cause of, or contributing to, the retention of 89.8% cannot be excluded.)

Despite the prolonged intake of a deficient diet the animals stood the tests well; no rat died directly as the result of the experimental procedure,

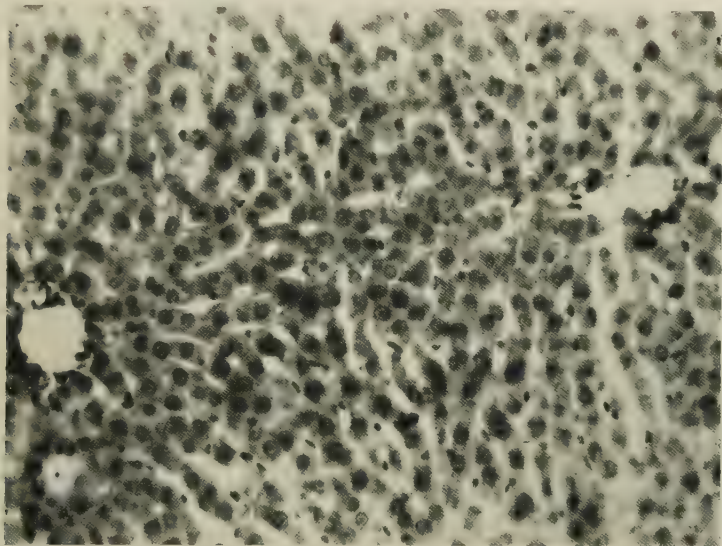


Fig. 3. Rat No. 16. Absence of gross pathological findings in the liver despite functional impairment after 93 days on "necrogenic yeast diet". Frozen-dried, 5 μ , H. E. $\times$ 255.

and histological examination of sections of the liver taken either immediately after the completion of the test or 24 hours later showed no significant differences. Attention should be drawn to rat No. 4, which showed a bromsulphalein retention of 100% after 61 days; this result was quite unexpected, since at that time the animal appeared in no way different from other animals in this series. 2 days later, however, it died with extensive, but still partial hepatic necrosis. On the strength of this finding it was assumed that rat No. 10, showing after 60 days the next-highest retention of 60.8%, would die next. It survived for another 24 days, whereas rat No. 25, with a retention of 8.7% after 54 days at the time of the 1st test, died unexpectedly a fortnight later. Although it does not therefore appear possible to compare the functional impairment of the liver in different animals in order to predict their fate—too little is known about the factors which precipitate death in this condition—the figures presented here nevertheless suggest that the gradual development

Table 1. *Bromsulphalein retention in rats on "Necrogenic Yeast Diet".*

No.	1st Bromsulphalein Retention Test.			2nd Bromsulphalein Retention Test.			Comment.
	Weight in gms.	Days of Experiment	B. S. P. Retention %	Weight in gms.	Days of Experiment	B. S. P. Retention %	
2	132	64	11.06	—	—	—	Moribund 78th day. Hepatic necrosis.
4	123	61	100.0	—	—	—	Died 63rd day. Hepatic necrosis.
8	111	59	12.13	104	97	27.65	No hepatic necrosis.
9	124	59	14.89	—	—	—	Moribund, 80th day. Hepatic necrosis.
10	132	60	60.85	—	—	—	Moribund, 84th day. Hepatic necrosis.
11	144	60	18.09	—	—	—	Moribund 79th day.
15	141	56	12.55	130	93	39.57	No hepatic necrosis.
16	128	56	9.79	114	93	17.45	No hepatic necrosis.
17	132	56	22.98	122	93	32.98	No hepatic necrosis.
18	134	55	18.09	122	92	38.51	No hepatic necrosis.
							4 small areas of hepatic necrosis present. Histology: Additional minute areas of recent necrosis.
19	134	55	13.70	117	92	38.52	Post-necrotic scarring with pigment cells.
20	144	55	19.15	—	—	—	Died on 68th day. Hepatic necrosis.
21	130	56	18.51	123	92	32.34	No hepatic necrosis.
23	142	56	19.57	131	92	18.30	No hepatic necrosis.
24	123	54	14.04	—	—	—	Moribund on 77th day.

Table 1. (Contd.)

No.	1st Bromsulphalein Retention Test.			2nd Bromsulphalein Retention Test.			Comment.
	Weight in gms.	Days of Experiment	B.S.P. Retention %	Weight in gms.	Days of Experiment	B.S.P. Retention %	
25	122	54	8.72	—	—	—	Moribund on 70th day.
26	128	54	11.702	—	—	—	Died on 75th day.
27	132	50	14.47	130	86	89.79	2nd test repeated after 1 hour — Liver: Post-necrotic scarring. Fatty change. No hepatic necrosis.
28	120	37	22.98	123	73	61.06	Hepatic necrosis in 1 lower lobe.
29	120	37	18.30	120	73	18.72	No hepatic necrosis.
30	130	37	27.23	123	73	20.85	No hepatic necrosis.
Normal Controls							
1 N	120	—	4.26	150	37	6.38	
2 N	132	—	6.81	164	37	6.39	
3 N	134	—	5.53	158	37	5.11	
4 N	133	—	6.81	158	37	6.38	
5 N	142	—	5.96	—	—	—	
6 N	138	—	3.19	—	—	—	

10 mg. 'Bromsulphalein' per 100 ml serum = 100% retention.

of the chronic deficiency state adversely affects the efficiency of the hepatic cell. This may take place even in the absence of gross, morphologically demonstrable changes, for histological examination of the liver of animals killed either immediately after the second liver function test or 24 hours later revealed few abnormal findings which could have been responsible for the functional impairment observed (Fig. 3). Only on close observation could it be seen that in most animals the cells around

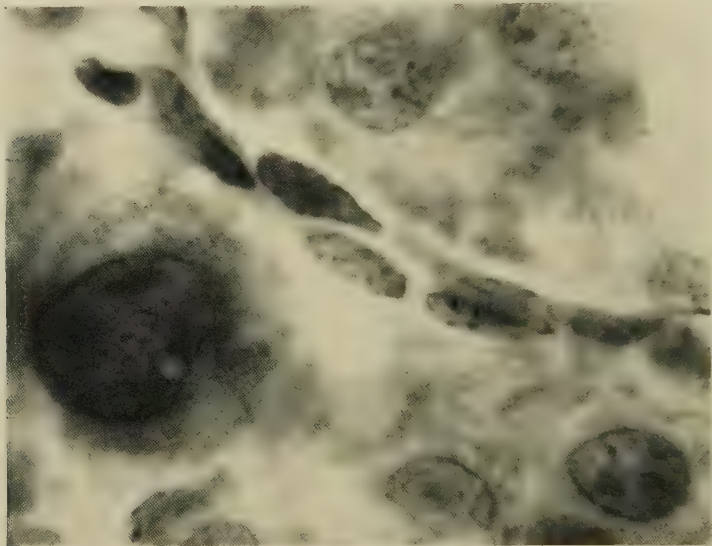


Fig. 4. Rat No. 8. Proliferating sinusoidal cells. Note large liver cell nucleus. — Frozen-dried, 5 μ , H. E. $\times$ 1800.

the central veins were more eosinophilic than the cells in the periphery of the lobule. This change was hardly at all visible if frozen-dried sections were used instead of material fixed in Grendre's fluid. The liver cells in some animals appeared rather smaller than normal, and occasionally a fine vacuolation was seen in the cytoplasm of the cells in the vicinity of the central veins, which could be shown to be fatty with Sudan Black. No abnormality of glycogen deposition could be demonstrated with the periodic acid-leucofuchsin stain except in cells which were necrotic; these were then free of glycogen. Nuclear abnormalities, mainly an undue proportion of large single nuclei (Fig. 4) were not uncommon, but no mitotic figures were noticed. The sinusoidal cells appeared prominent, and could occasionally show very marked swelling and proliferation (Fig. 4). Definite fibrous tissue formation, presumably the result of "post-necrotic scarring" was found only in two rats (No. 19 and 27) in which accumulations of large cells, loaded with granules of yellowish-brown

pigment, could be seen in the vicinity of the central veins or portal vessels. In two additional animals (No. 8 and 15) these macrophages were, however, present without any evidence of previous necrosis or fibrosis; they could be shown to be detached sinusoidal cells laden with iron-containing pigment. Definite cell necrosis was seen in only two animals: in rat No. 28 one lower lobe was completely necrotic, and in another one an area of necrosis of approximately 6 mm. in diameter was present. In rat No. 18 a small area of approximately 4 mm. in diameter was seen in each of 2 upper and 2 lower lobes. Microscopical examination revealed in addition occasional, very small areas of what must have been an early stage of liver necrosis. The cells in these foci had lost their outline, their cytoplasm was either vacuolated or had a granular, ground-glass appearance and glycogen was either absent or reduced in amount.

Discussion.

It is apparent that the prolonged ingestion of the "necrogenic yeast diet" during the latent period necessary to produce hepatic necrosis significantly impairs the functional integrity of the liver. This may happen in the absence of demonstrable morphological changes (HIMSWORTH and GLYNN, 1944/45; SCHWARZ, 1950) or may be accompanied by changes which are not considered to be specific (ABELL et al, 1950). The microscopic findings reported here agree with these observations. Although the bromsulphalein retention test merely assesses one of the many functions of the liver, its gradual impairment, and the increasing severity of the latter with the passing of time show that the course of the dietary deficiency necessary to induce hepatic necrosis does not differ from that expected in any chronic deficiency disease. Dietary hepatic necrosis can therefore be thought of as an acute episode superimposed on a chronic depletion of essential nutrients. It is probable that the varying degree of impairment of the bromsulphalein retention test is merely another expression of the well known variation of susceptibility of different rats towards the onset of hepatic necrosis. The factors which determine this variation are at present unknown. HIMSWORTH and GLYNN (1944/45) suggested that differences in the accessibility of food, and therefore in food intake, could be responsible for the differences observed in the survival times of their experimental animals. This explanation cannot be accepted, since in the series presented here each rat, with transient and only minor exceptions, consumed the whole ration of food offered throughout the experiment. From the work of LINDAN and HIMSWORTH (1950), however, it would appear probable that the variations in susceptibility may be a function of the body's stores of tocopherol.

A point of theoretical interest is the occurrence of a vacuolation in the liver cells which is not due to the accumulation of fat, but which

possesses some of the morphological and staining characteristics of the "watery vacuolation" found in hypoxic states of the liver. GRÖRGY and GOLDBLATT (1939) have observed vacuoles in the liver of animals dead or dying with dietary necrosis which they considered to be an example of "hydropic degeneration". Since it is not stated whether their animals were exsanguinated—exsanguination, according to TROWELL (1946), being necessary for the proof that the vacuolation was not produced after the death of the animal—, and since the staining characteristics of these vacuoles apparently were not further investigated, it is not certain that this type of vacuolation is identical with the vacuolation described by PICHOTKA (1942), ALTMANN (1949), KETTLER (1948), TROWELL (1946), ATERMAN (1952), DONIACH and WEINBREN (1952) and HANZON (1952), and seen again here. The occurrence of eosinophil, phloxinophil vacuoles staining with the periodic acid-leucofuchsin stain raises the question whether this anoxic vacuolation is an integral part of the pathological process culminating in the death of the liver cell, or whether it is merely a preterminal phenomenon in a moribund animal, the result of the profound circulatory disturbance caused by the shock of sudden liver necrosis. This important question requires further experimental investigation.

Summary.

A study of the bromsulphalein excretion in 30 male albino rats fed a deficient diet causing hepatic necrosis showed a significant impairment of liver function during the latent interval, which increased with the passing of time. Functional liver damage could occur in the absence of, or in the presence of only minor, nonspecific morphological changes. In the liver of 3 animals vacuoles were found which had some of the characteristics of "anoxic vacuolation". It is concluded that dietary necrosis of the liver is an acute manifestation of a chronic deficiency state.

We should like to thank Mr. PH. ORTON for his technical assistance.

References.

- AAES-JØRGENSEN, E., H. DAM and H. GRANADOS: *Acta pharmacol* (Køpenh.) **7**, 171 (1951). — ABELL, M. R., J. M. R. BEVERIDGE and J. H. FISHER: *Arch. of Path.* **50**, 1 (1950). — AHMAD, N. D., and N. C. FRAZER: II^e Congrès International de Biochimie, Paris 1952, p. 344. — ALTMANN, H. W.: *Frankf. Z. Path.* **60**, 376 (1949). — ATERMAN, K.: *Arch. of Path.* **53**, 209 (1952). — ATERMAN, K., and S. M. GREENBERG: *Lancet* **I**, 1952, 545. — CHRISTENSEN, F., and N. DAM: *Acta pharmacol.* (Køpenh.) **7**, 167 (1951). — DAM, H., and H. GRANADOS: *Acta pharmacol.* (Køpenh.) **7**, 181 (1951). — DOBBERSTEIN, J., and A. HOCK: *Z. physiol. Chemie* **280**, 21 (1944). — DONIACH, I., and K. WEINBREN: *Brit. J. Exper. Path.* **33**, 499 (1952). — ERSHOFF, H. B.: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **78**, 836 (1951). — GERSH, I.: *Bull. Internat. Ass. Med. Mus.* (Montreal) **28**, 179 (1948). — GLYNN, L. E., and H. P. HIMSWORTH: *J. of Path.* **56**, 297 (1944). — GOETTSCH, M.: *J. Nutrit.* **44**, 443 (1951). — GRANADOS, H., and H. DAM: (a) *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.*

59, 295 (1945). — (b) *Science* (Lancaster, Pa.) **101**, 250 (1945). — GYÖRGY, P., and H. GOLDBLATT: *J. of Exper. Med.* **70**, 185 (1939). — HANZON, V.: *Acta physiol. scand.* (Stockh.) **28**, Suppl. 101 (1952). — HIMSWORTH, H. P.: *The liver and its diseases*, 2nd edition. Oxford: Blackwell 1950. — HIMSWORTH, H. P., and L. E. GLYNN: *Clin. Sci.* **5**, 93 (1944/45). — HOFFBAUER, F. W.: *Transact. 8th Conference on Liver Injury*. New York: J. Macy Jr. Found 1950. — HOVE, E. L.: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **63**, 508 (1946). — *Ann. New York Acad. Sci.* **52**, 217 (1949/50). — KETTLER, L. H.: *Arch. path. Anat.* **315**, 587 (1948). — LENDRUM, A. C.: *J. of Path.* **59**, 399 (1947). — LINDAN, O., and H. P. HIMSWORTH: *Brit. J. Exper. Path.* **31**, 651 (1950). — PICHOTKA, J.: *Beitr. path. Anat.* **107**, 117 (1942). — SCHWARZ, K.: *Z. physiol. Chem.* **281**, 101 (1944). — *Transact. 8th Conference on liver injury*. New York: J. Macy Jr. Found 1950. — *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **77**, 818 (1951). — SÓOS, J., T. KEMÉNY and M. SCHNELL: *Acta physiol. (Budapest)* **4**, 211 (1953). — TROWELL, O. A.: *J. of Physiol.* **105**, 268 (1946).

Dr. N. D. AHMAD, Nishtar Medical College, Multan, Pakistan
and Dr. K. ATERMAN, Department of Anatomy, Medical School, Hospitals Centre,
Birmingham 15, England.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN).

Rhythmische Kontraktionen des Ratten-Uterus und Curarewirkungen.

Von

D. HEINRICHS und W. RUMMEL.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Dezember 1953.)

Das isolierte, überlebende Uterushorn einer Ratte kontrahiert sich über längere Zeit mit oft fast mechanischer Präzision und konstanter Frequenz. Derartige synchrone, rhythmische Kontraktionen glatter und quergestreifter Muskeln sind geläufige Erscheinungen. Am Uterushorn sind keine Ganglien aufzufinden, so daß die Rhythmik hier keiner Steuerung unterliegt, wie sie von Herz und Darm bekannt ist.

Das Uterushorn der Ratte weist also an pharmakologisch ansprechbaren Elementen lediglich Muskel- und Nervenfasern sowie die Kontaktstellen beider auf. Es ist nun von Interesse, ob Curare bzw. analoge quartäre Ammoniumbasen hier auch eine Wirkung zeigen, obwohl nach allgemeiner Auffassung für deren Wirksamwerden Muskelendplatten vorhanden sein müssen oder Ganglienzellen, wie FELDBERG dies am Darm zeigte. Dieser Frage muß erst noch eine andere vorausgehen: Ist Acetylcholin (ACH) die physiologische Aktionssubstanz für die rhythmischen Spontankontraktionen. Hieraus ergibt sich schließlich eine weitere Frage, die der experimentellen Klärung bedarf: Kommt Curare eine spezifische, von Atropin abgrenzbare Wirkung zu. Damit ist die Frage verbunden: Ist der Anticurare-Effekt von Physostigmin seiner Natur nach tatsächlich nichts anderes als eine ACH-Wirkung.

Methodik.

Zu den Versuchen wurden 150—180 g schwere weibliche, nicht trächtige, weiße Ratten verwandt — ohne Berücksichtigung der Zyklusphase, in der sich die Tiere befanden. Die Tiere wurden durch Dekapitation getötet und entblutet. Nach Eröffnung des Abdomens wurden beide Uterushörner sorgfältig präpariert, mit dem Corpus entnommen, die Ovarien abgetrennt und eines der Uterushörner halbiert. Dieses wurde nach der Methode von MAGNUS-KEHRER in einem Glasgefäß von 10 ml aufgehängt. Die Belastung des Hebels (0,6 g) und seine Vergrößerung auf die berußte Trommel waren in allen Fällen gleich. Die Temperatur des Thermostaten betrug 37° C. Die benutzte Tyrodelösung war etwas modifiziert: auf 1000 ml Aqua dest. NaCl 8,0 g, KCl 0,2 g, CaCl₂ 0,2 g, MgCl₂ 0,01 g, NaHCO₃ 1,0 g, Glucose 1,0 g. Vor Beginn des Versuches hing das Präparat mindestens ½ Std in der mit

Sauerstoff durchperlten Badeflüssigkeit. Die zugegebenen Substanzen wurden in Tyrode gelöst. Die Konzentrationen waren so gewählt, daß jeweils nicht mehr als 0,5 ml zugegeben werden mußte. Die Lösungen wurden immer frisch zubereitet. Die Gesamtzahl der Versuche betrug 70.

Ergebnisse.

Rhythmische Spontankontraktionen haben wir über 4—6 Std beobachtet. Während dieser Zeit bleiben Frequenz und Amplitude vielfach praktisch unverändert. Schon v. BEZNÁK hielt es für sehr wahrscheinlich, daß ACH als auslösender Überträgerstoff dabei die entscheidende Rolle spielt, weil durch ACH ganz ähnliche Effekte ausgelöst werden, wie wir sie bei den Spontankontraktionen zu sehen gewohnt sind. Durch vorherige Zugabe von Physostigmin können diese Kontraktionen verstärkt werden. Physostigmin allein löst auch schon eine derartige Antwort aus. Diese Versuche haben wir wiederholt, und wir erhielten die gleichen Ergebnisse.

Darüber hinaus ist von uns untersucht worden, welche ACH-Konzentration gerade ausreichend ist, um Präparate, die ursprünglich in völliger Ruhe verharreten, in Aktion zu versetzen und vor allem, wie lange die Wirkung einer solchen niedrigen Konzentration anhält. Es läßt sich beobachten, daß der Effekt weit länger andauert, als dem spontanen Zerfall bzw. der fermentativen Spaltung des ACH nach zu erwarten wäre. Man kann für diese Untersuchung Präparate verwenden, die von Anfang an keine Spontanaktivität zeigen, oder auch anfänglich aktive Präparate, die ihre Tätigkeit nach 2—3 Std völlig eingestellt haben, was häufig der Fall ist. An 5 derartigen Präparaten dauerte nach 30 min völliger Ruhe die Wirkung von 0,05—0,1 γ ACH/ml 3—4 Std an. (Durch vorherige Tyrode-Zugabe muß erwiesen sein, daß das Präparat nicht zufällig so labil ist und bereits der mechanische Reiz beim Einspritzen solche Kontraktionen auslösen kann.) In Abb. 1 ist ein anderes Beispiel herausgegriffen. Die ACH-Konzentration ist hier relativ hoch, 0,25 γ /ml; sie veranlaßt den Muskel nach 30 min Ruhe zu einer Kontraktur, die sich rasch in rhythmische Einzelkontraktionen auflöst. 1 Std nach der ACH-Zugabe wird abgebrochen, ohne daß die Wirkung nachgelassen hätte.

Diese Beobachtung läßt gerade in Gegenüberstellung zum anderen Überträger, dem *Adrenalin* (ADR), hier am Rattenuterus die besondere Natur des ACH als Überträgerstoff deutlich werden. Adrenalin bringt schon in kleinsten Mengen die Kontraktionen zum Verschwinden. So hält nach vorheriger Gabe von 0,05 γ ACH/ml z. B. die kontraktionsauslöschende Wirkung von 0,025 γ ADR/ml 2,5 min, von 0,05 γ /ml 5 min und von 0,125 γ /ml 7 min an. Im Falle des ADR ist die Wirkung nun wirklich so flüchtig, wie man es auch schon beim ACH erwartet hatte. Die Dauer der Wirkung entspricht offenbar der Abbaupzeit. Das wird deutlich, wenn man den oxydativen Abbau des ADR mit Ascorbinsäure

hemmt. In dem in Abb. 2 wiedergegebenen Fall wird durch vorherige Gabe von $50 \gamma/\text{ml}$ Ascorbinsäure der Abbau von $0,025 \gamma/\text{ml}$ ADR, die ohne Ascorbinsäure nur 1,5 min wirken, so verzögert, daß die Wirkungsdauer auf 5 min verlängert ist und der 3fachen ADR-Menge $0,075 \gamma/\text{ml}$ entspricht.



Abb. 1. Auslösung von rhythmischen Kontraktionen durch Acetylcholin bei einem vorher aktionslosen Muskel. ACH Acetylcholin.

Curare (d-Tubocurarinchlorid „Asta“) vermindert mit steigender Dosis zunehmend Frequenz und Amplitude der Spontankontraktionen bis zur völligen Auslöschung. Wie aus Abb. 3a hervorgeht, liegen die

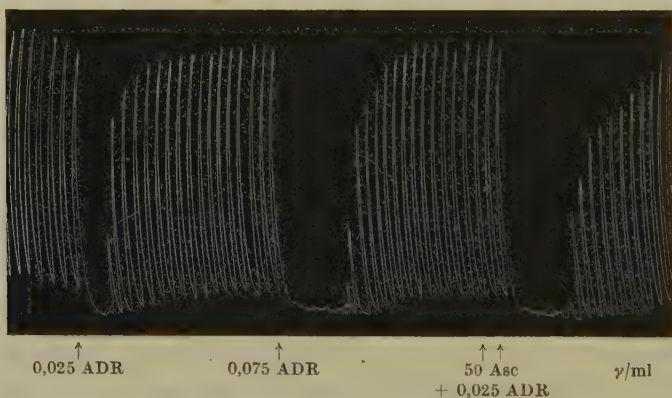


Abb. 2. Adrenalinwirkung ohne und mit Zugabe von Ascorbinsäure. ADR Adrenalin, Asc Ascorbinsäure. 1 cm = 5 min.

wirksamen Grenzkonzentrationen um $25 \gamma/\text{ml}$. Auch andere quartäre Ammoniumbasen (Buscopan = Hyoscin-N-butylbromid und Pendiomid = N, N, N', N', 3-Pentamethyl-N, N'-diäthyl-3-azapentylen [1,5]-diammoniumdibromid) wirken ebenso, wenn auch zum Teil erst in höherer

Konzentration (Abb. 3b). Die isolierte Beeinflussung der Frequenz ohne Veränderung der Amplitude, was auch von Curare bei geringerer Dosierung beobachtet werden kann, stellt sich in den abgebildeten Beispielen besonders eindrucksvoll dar.

Curare besitzt die kontraktionsauslöschende Wirkung ebenfalls gegenüber ACH, Physostigmin, Kalium, Barium, Gynergen (Ergotamintartrat) und Hypophysin. Als typisches Beispiel greifen wir das letzte heraus (Abb. 4).

Physostigmin zeigt auch am Rattenuterus in einer Konzentration von 50—100 γ /ml seine Anticurarewirksamkeit (Abb. 5). ACH hebt gleichfalls die Curarelähmung auf. Durch eine entsprechend gewählte Konzentration kann man sogar zeigen, wie aus einer gleichzeitig vorhandenen völlig lähmenden Curare-Konzentration einerseits und einer kontrakturerzeugenden ACH-Konzentration andererseits eine Tätigkeit des Präparates resultiert, die in Amplitude und Frequenz den ursprünglichen Spontankontraktionen eben gleich ist. Abb. 6 ist ein Beispiel dafür.

Handelt es sich nun bei dieser gegen die beiden Parasympathicomimetica, ACH und Physostigmin, gerichteten Curarewirkung etwa um einen atropinartigen Effekt? Eine Antwort auf diese Frage gibt Abb. 7.

Atropin (0,001 γ /ml) löst den ACH-Effekt (0,25 γ /ml) auf (s. Abb. 7a);

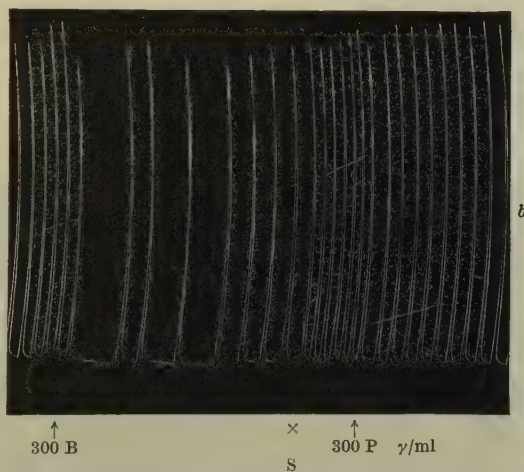
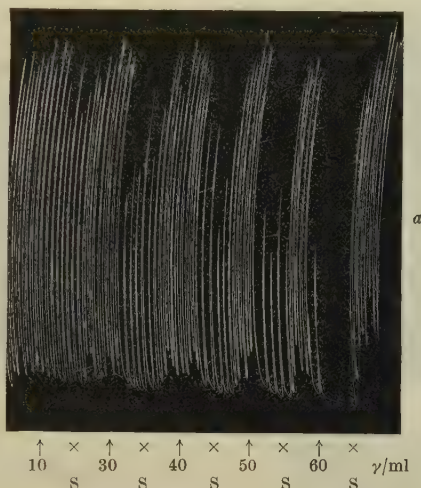


Abb. 3a u. b. Wirkung von Curare in steigender Konzentration (a) und von verschied. quartären Ammoniumbasen (b) auf Frequenz und Amplitude der Spontankontraktionen. Cu d-Tubocurarinchlorid; B Buscopan; P Pendiomid; S Spülen.

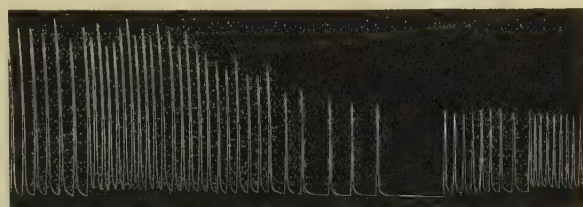
Abb. 3a: 1 cm = 8 min; Abb. 3b: 1 cm = 5 min.

stigmin-Wirkung letztlich durch ACH bedingt wäre. Auf Abb. 8a ist aber zu sehen, daß das nicht zutrifft. 100 γ Atropin/ml, eine Konzentration, die die vorherige charakteristische Wirkung von 0,005 γ ACH/ml nicht mehr in Erscheinung treten läßt — ja, nicht einmal die der 10- und sogar 100-fachen ACH-Konzentration — vermag die Wirksamkeit von 200 γ /ml Physostigmin nicht zu beeinflussen, obwohl Atropin hier



↑
0,25 ACH + 0,001 Atr

γ/ml



↑
50 Atr + 10 Cu + 10 Cu

↑
50 Atr + 25 Atr γ/ml

Abb. 7a (links).

Atropinwirkung bei rhythmischen Acetylcholincontraktionen.

Abb. 7b (rechts). Antagonistisches Verhalten von Atropin und Curare.
ACH Acetylcholin; Atr Atropin; Cu Tubocurarinchlorid.



↑
50 Atr + 100 Cu + 50 Ph

×
γ/ml
S



↑
0,005 ACH ×
S

↑
200 Ph

×
S

↑
100 Atr

×
S

↑
100 Atr

↑
+ 0,005 ACH

↑
+ 200 Ph γ/ml

↑
+ 0,05 ACH

↑
+ 0,5 ACH

Abb. 8a (links). Wirkung von Acetylcholin und Physostigmin ohne und bei Anwesenheit von Atropin.

Abb. 8b (rechts). Anticurareffekt des Physostigmins bei Anwesenheit einer kontraktionsauslösenden Dosis von Atropin.

ACH Acetylcholin; Ph Physostigmin; Atr Atropin; Cu d-Tubocurarinchlorid; S Spülen.

sicher nach wie vor noch gleich stark wirkt. Bisweilen kommt es zwar zu einer ganz geringgradigen Abschwächung des Physostigmin-effektes; eine Aufhebung haben wir jedoch bei Atropinkonzentrationen, die zum Auslöschen der ACH-Wirkung voll genügten, nicht beobachtet. In Abb. 8b ist es einmal gelungen, mit Atropin eine starke Kontraktur zu erzeugen, diese mit Curare aufzulösen und dann mit Physostigmin — trotz Vorhandensein jener hohen kontrakturerzeugenden Atropin-Konzentration — dem lähmenden Curare-Effekt bis zu einem gewissen Grade entgegenzuwirken.

Diskussion.

BURN und VANE sprachen die Vermutung aus, die durch weitere Untersuchungen am Aurikelmuskel erhärtet wurde (BÜLBRING und BURN), ACH besitze über seine bekannte Natur als Überträgerstoff hinaus noch die besondere Fähigkeit, Spontankontraktionen zu unterhalten. Aus der langen Wirksamkeit niedriger ACH-Konzentrationen darf man wohl schließen, daß dem ACH als *Aktionssubstanz* auch für den Ratten-Uterus gleiche Bedeutung zukommt wie für die Aurikel-Muskulatur. Dieses analoge Verhalten zweier Substrate mit rhythmischer Spontankontraktion dürfte mehr als zufällig sein. Die Vermutung v. BEZNÁKS findet durch diese Befunde gleichfalls ihre Bestätigung.

Recht interessant erscheint in diesem Zusammenhang das Verhalten des Ratten-Uterus auf *Curare*, die anderen geprüften quartären Ammoniumbasen und Atropin. Beachtenswert ist das Stadium, in dem *nur* die *Frequenz*, nicht aber die Amplitude reduziert ist. Das sieht so aus, als bedürfe es auf Grund einer teilweisen Blockade des Effektors erst einer gewissen Zeit, bis sich eine überschwellige ACH-Menge gebildet hat, die bei Gegenwart der genannten Substanzen ausreicht, um eine Kontraktion synchron auszuklinken. Die Einzelkontraktion erfolgt dann in voller Stärke. In eine derartige Interpretation fügt sich auch das in Abb. 6 dargestellte Ergebnis. Es zeigt, daß man ein Konzentrationsverhältnis von Curare und ACH finden kann, aus dem eine in Frequenz und Amplitude den anfänglichen Spontankontraktionen völlig gleiche Tätigkeit des Präparates resultiert. So läßt sich auch an diesem Objekt der strikte Antagonismus zwischen ACH und Curare nachweisen, den KUFFLER schon am Nerv-Muskelpreparat aufgezeigt hat. Wir haben bereits an anderer Stelle auf parallele Verhaltensweisen unseres glattemuskulären Objekts und des quergestreiften Muskels trotz ihrer grundsätzlichen Verschiedenartigkeit hingewiesen (HEINRICHS und RUMMEL).

Die Curare-Wirkung wurde hier am glatten Muskel untersucht. Wegen dieser Besonderheit bedurfte es einer Differenzierung gegenüber Atropin. Durch die Tatsache, daß Atropin unter Umständen ACH-artig wirkt, und Curare dann diesen Effekt paralyisiert, ist die Andersartigkeit der beiden

Stoffe wohl am deutlichsten charakterisiert. Derartige parasymphathicomimetische Atropineffekte wurden hin und wieder beobachtet (u. a. ÖTVÖS; ZUCKER; BLUME; LÜLLMANN). Man muß dabei aber zwischen den hier in Betracht gezogenen *acetylcholinartigen* Atropinwirkungen und jenen, die bei *chronischer* Atropinisierung auftreten (METZNER; BLUME), unterscheiden, da im letzten Fall komplizierte reflektorische Vorgänge der Erscheinung zugrunde liegen (BLUME; HUFSCMIDT und RUMMEL). Zur Erklärung des acetylcholinartigen Atropineffektes in unserem Versuch kann man entweder annehmen, daß Atropin selbst am ACH-Receptor in höheren Konzentrationen wie ACH wirkt — wie das auch zur Deutung der acetylcholinartigen Curarewirkung am denervierten, quergestreiften Muskel geschieht, — oder wie LÜLLMANN meint, daß der Effekt auf einer Hemmung der Cholinesterase beruht.

Gewöhnlich spricht man nur bei den Lähmungen, die Physostigmin nach völliger Ausschaltung der Cholinesterase durch Diisopropylfluorophosphat oder Tetraäthylpyrophosphat (KIRSCHNER und STONE) erzeugt, von einer Eigenwirkung des Physostigmins. Seine aktionsfördernden Eigenschaften werden dagegen im allgemeinen als eigentliche ACH-Wirkungen gedeutet. Es gibt freilich auch bereits dem entgegengesetzte Befunde und Ansichten (VERZÁR; RIKER und WESCOE; MIQUEL, ROSENBLUETH und LUCO; KAHLSON und UVNÄS). Sieht man aber, daß trotz eines Grades von Atropinisierung, der sogar das Hundertfache der ursprünglich wirksamen ACH-Konzentration noch unterdrückt, der Physostigmin-Effekt unvermindert ist (Abb. 8a), ja, daß Physostigmin sogar noch bei einer so hohen Atropin-Konzentration, die selbst bereits ACH-artig wirkt, den lähmenden Curareeffekt aufzuheben vermag (Abb. 8b), so fällt es schwer, die bisherige Anschauung beizubehalten. Man kann sich darum kaum der Auffassung verschließen, daß in diesem Fall auch die kontraktionsfördernden Eigenschaften von Physostigmin unmittelbar ihm selbst zukommen und nicht unbedingt an seine Natur als Cholinesterasehemmer gebunden sind.

Zusammenfassung.

1. Mit Acetylcholin können rhythmische Kontraktionen ausgelöst und über Stunden unterhalten werden. Die kontraktionsauslöschende Wirkung von Adrenalin dagegen dauert nur wenige Minuten an, läßt sich aber durch Zugabe von Ascorbinsäure verlängern.

2. d-Tubocurarin und andere quartäre Verbindungen vermindern mit steigender Konzentration zunehmend Frequenz und Amplitude der spontanen und pharmakologisch ausgelösten Kontraktionen.

3. Physostigmin besitzt auch noch nach völliger Aufhebung des Acetylcholineffekts durch Atropin seine Anticurarewirksamkeit.

Literatur.

BEZNÁK, M. v.: Pflügers Arch. **246**, 428 (1942). — BLUME, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **164**, 226 (1932). — BÜLBRING, E., and J. H. BURN: J. of Physiol. **108**, 508 (1949). — BURN, J. H., and J. R. VANE: J. of Physiol. **108**, 104 (1949). — FELDBERG, W.: J. of Physiol. **113**, 483 (1951). — HEINRICHS, D., u. W. RUMMEL: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 145 (1953). — HUFSCHMIDT, H. J., u. W. RUMMEL: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 65 (1949). — KAHLSON, G., u. K. URVÄS: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **78**, 40 (1938). — KIRSCHNER, L. B., and W. E. STONE: J. Gen. Physiol. **34**, 821 (1951). — KUFFLER, S. W.: J. of Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — LÜLLMANN, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 152 (1952). — METZNER, R.: Verhandl. d. natf. Ges. in Basel 1909, Bd. 20, H. 1. Zit. nach BLUME. — MIQUEL, O.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **88**, 67 (1946). — ÖTVÖS, E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **136**, 58 (1921). — RIKER, W. F., and W. CH. WESCOE: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **88**, 58 (1946). — ROSENBLUETH, A., and J. v. LUCCO: Amer. J. Physiol. **120**, 781 (1937). — VERZÁR, F.: Erg. Physiol. **32**, 391 (1931). — ZUCKER, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **96**, 28 (1923).

Dr. D. HEINRICHS, jetzt Marburg/Lahn, Universitäts-Frauenklinik.

Doz. Dr. W. RUMMEL, Düsseldorf, Pharmakolog. Institut d. Medizin. Akademie.

Aus der Pharmakologischen Sektion des Refik Saydam Instituts
und dem Pharmakologischen Institut der Universität Ankara
(Direktor: Prof. Dr. PAUL PULEWKA).

Erklärung der Temperaturabhängigkeit der resorptiven toxischen Wirkung des Novocains*.

Von

PAUL PULEWKA, DÜNDAR BERKAN und SCHÜKRÜ KAYMAKTSCHALAN.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Januar 1954.)

In früheren Arbeiten wurde gezeigt, daß mit steigender Umgebungstemperatur nicht nur die letale Wirkung des Novocains für Mäuse (SIEVERS und McINTYRE), sondern auch die am Kriterium der zentralen Lähmung mit Krämpfen bestimmte „toxische Wirkung“ des Novocains und des Tutocains zunimmt [PULEWKA und BERKAN (1) (2)]. Im Gegensatz zu diesen zentralen Wirkungen nahm die resorptive mydriatische Wirkung in der Wärme nicht zu. Die Zunahme der Toxizität mit steigender Temperatur der Umgebung kann also nicht Folge einer erhöhten Giftkonzentration im Körper sein, die man bei einer durch Wärmehyperämie beschleunigten Resorption erwarten konnte. Obwohl sich tatsächlich aus dem schnellen Verlauf der resorptiven Wirkungen in der Wärme eine Resorptionsbeschleunigung ergab, so wurde doch ihr Einfluß durch eine ebenfalls schnellere Elimination wieder aufgehoben. Die Steigerung der Giftigkeit in warmer Umgebung ließ sich nach unseren bisherigen Versuchen dahingehend formulieren, daß die „Empfindlichkeit“ des Zentralnervensystems gegen die toxischen Wirkungen der Lokalanaesthetika mit steigender Umgebungstemperatur zunimmt.

Versuche.

Um eine Erklärung für den Zusammenhang der Empfindlichkeit mit der Umgebungstemperatur zu finden, haben wir den Einfluß der Lokalanaesthetika auf die Körpertemperatur bei wechselnder Umgebungstemperatur zusammen mit den übrigen resorptiven Wirkungen, wie zentrale Lähmung, Krämpfe und Mydriasis verfolgt.

Nach der Beobachtung französischer Forscher (zit. nach POULSSON) bewirkt Stovain bei Meerschweinchen eine Senkung der Körpertemperatur. GLAUBACH und PICK fanden nach Injektion von Novocain bei Kaninchen eine geringe, bei Meerschweinchen eine größere Erniedrigung der Körpertemperatur.

* Eine vorläufige Mitteilung wurde auf der Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft 1951 in Mainz gemacht. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. (Tagungsbericht) 216 (1952).

Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurden nicht wie früher Mäuse, sondern Ratten verwendet.

Dies geschah zunächst aus äußeren Gründen, weil wir für Mäuse etwas zu große Thermometer erhalten hatten. Es war aber auch von sachlichem Interesse, die an Mäusen gefundenen Gesetzmäßigkeiten an anderen Tierarten zu prüfen und weiter zu verfolgen. Zunächst war festzustellen, ob die Giftigkeit des Novocains bei der Ratte in gleicher Weise von der Umgebungstemperatur abhängig ist wie bei der Maus. Nachdem die Vorversuche mit Quecksilberthermometern ausgeführt worden waren, wurde zu den hier wiedergegebenen Messungen der Körpertemperatur das Temperaturmeßgerät der Firma Elektrolaboratoriet Copenhagen verwendet.

Tab. 1 zeigt, wie viele von einer Anzahl Ratten nach subcutaner Injektion von 30 mg/100 g (6 mg/20 g) Novocain/HCl bei einer Umgebungstemperatur von 22° und von 37° mit toxischen Symptomen (zentrale Lähmung mit Krämpfen) und mit Tod reagierten. Alle tödlich vergifteten Tiere sind in der Zahl der mit toxischen Symptomen reagierenden Tiere eingeschlossen. Außerdem ist das durchschnittliche Maximum der mydriatischen Wirkung und die durchschnittliche maximale Änderung der rectalen Temperatur, die nach der Novocaininjektion eintrat, angegeben.

Die Versuche wurden bei beiden Raumtemperaturen an den gleichen männlichen Ratten, deren Gewicht zwischen 175 und 225 g lag, ausgeführt, doch wurden vor dem Versuch bei 37° zwei Tiere wegen interkurrenter Krankheit ausgeschaltet. Alle Tiere waren vor dem Versuch gefüttert. Die Pupillenweite und die Körpertemperatur wurden vor und alle 15 min nach der Novocaininjektion gemessen. Die mydriatische Wirkung wurde ebenso wie in früheren Versuchen durch den aus den nach der Injektion und vor der Injektion gemessenen Pupillendurchmessern berechneten Quotienten ausgedrückt.

Die relative Luftfeuchtigkeit lag bei allen Versuchen in einer Umgebung von 37° zwischen 35 und 50%, in den Versuchen bei 22° lag sie zwischen 40 und 65%.

Tabelle 1.
30 mg/100 g Novocain/HCl.

Umgebungstemperatur	22°	37°
Gesamtzahl der Ratten	29	27
Zahl der mit toxischen Symptomen	15	25
mit Tod reagierenden Ratten	0	12
Durchschnittliches Maximum der		
mydriatischen Wirkung	8,7	8,8
thermischen Wirkung	—2,0°	+2,7°

Wie die Tabelle zeigt, ist bei 37° die Zahl sowohl der mit toxischen Symptomen als auch der mit Tod reagierenden Ratten viel größer als bei 22°. Die mydriatische Wirkung ist dagegen von der Umgebungstemperatur unabhängig. Die Ratte verhält sich demnach hinsichtlich des

Temperatureinflusses auf die resorptiven Wirkungen des Novocains prinzipiell gleichartig wie die Maus [vgl. PULEWKA u. Mitarb. (1), (2)].

Weiter ergibt die Tabelle, daß nach der subcutan verabreichten Novocaindosis von 30 mg/100 g bei 22° eine Senkung, bei 37° eine Steigerung der Körpertemperatur eintrat: Die Wärmeregulation ist durch das Lokalanaesthetikum stark geschwächt, so daß die Tiere in entsprechendem Maße poikilotherm werden.

Abb. 1 illustriert den Einfluß der angegebenen Novocaindosis auf den Verlauf der Zeitwirkungskurven der thermischen und der mydriatischen Wirkung bei 22° und bei 37° C.

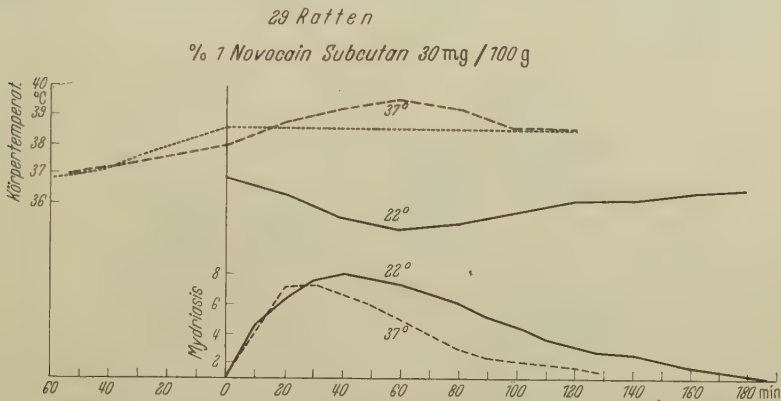


Abb. 1. Zeitwirkungskurven nach den Mittelwerten der an allen Tieren erhaltenen Ergebnisse.

Die Kurven sind nach den Mittelwerten von 29 Ratten aufgestellt. Bei den Versuchen in der Wärme wurden die Tiere 1 Std vor der Novocaininjektion in den auf 37° eingestellten Brutraum gesetzt und 3 Std nach der Injektion darin belassen. Die Zeit 0 bezeichnet den Zeitpunkt der Injektion.

Die punktierte Kurve stellt das Verhalten der Rectaltemperatur bei 37° ohne Novocainanwendung dar. Die ausgezogenen Kurven zeigen oben die rectal gemessene Körpertemperatur, unten die mydriatische Wirkung bei 22°, die gestrichelten Kurven zeigen beide Funktionen während der Versuche bei 37° an.

Aus Abb. 1 ergibt sich folgendes:

Die mydriatische Wirkung erreichte in einer Umgebung von 37° durchschnittlich beinahe die gleiche Höhe wie bei 22°, doch war der zeitliche Verlauf der Wirkung in der Wärme viel schneller als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, die Kurve erreichte früher das Maximum und fiel dann viel schneller ab. Auch darin verhalten Ratten sich ebenso wie Mäuse [vgl. PULEWKA (2)].

Die Rectaltemperatur der Ratten fiel in einer Umgebung von 22° im Laufe 1 Std nach der Novocaininjektion durchschnittlich um 2°.

Zum Vergleich sei hier angeführt, daß nach WARE, HILL und SCHULTZ normalerweise die Rectaltemperatur erwachsener weißer Ratten erst bei einer Umgebungs-

temperatur von 2—4° in 3 Std durchschnittlich um 1,5° abnimmt. Eine schnellere Abkühlung der Ratte tritt erst bei einer Lufttemperatur von —15° ein (GIAJA).

In einer Umgebung von 37° stieg ohne Novocainanwendung die Körpertemperatur unserer Ratten im Laufe 1 Std durchschnittlich um 1,5°, darauf blieb sie konstant. Wenn die Ratten aber nach einstündiger Vorwärmung bei 37° die angegebene Novocaindosis subcutan erhielten und in der warmen Umgebung verblieben, so stieg ihre Körpertemperatur nochmals um mehr als 1° im Durchschnitt.

Demnach zeigten bei einer Differenz der Raumtemperatur von 15° die Ratten ohne Novocainbehandlung eine Differenz der Körpertemperatur von durchschnittlich 1,5°, nach der subcutanen Injektion von 30 mg/100 g

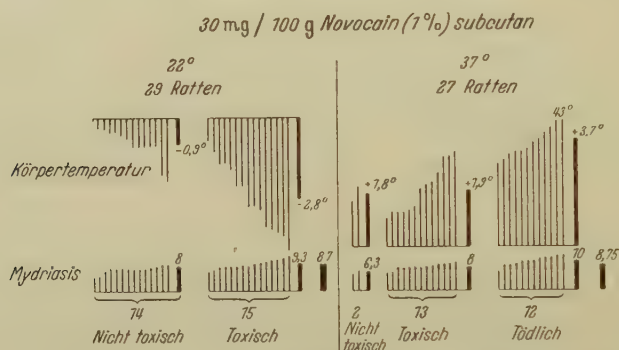


Abb. 2. Einzel- und Mittelwerte der Wirkungsmaxima, nach der Umgebungstemperatur und dem Grade der toxischen Wirkung gruppiert.

Novocain aber eine Differenz von durchschnittlich 4,7°. Infolge der Streuung wurden in extremen Fällen bei der Verschiedenheit der Umgebungstemperatur um 15° Differenzen der Rectaltemperaturen von mehr als 9° beobachtet (z. B. bei 22° eine Rectaltemperatur von 33,4°, bei 37° eine Rectaltemperatur von 42,7°).

In Abb. 2 sind durch graphische Darstellung aller Einzelergebnisse die Streuung und die Beziehungen der verschiedenen Wirkungen zueinander sichtbar gemacht.

Je nach dem Auftreten oder Ausbleiben der toxischen Wirkung (zentrale Lähmung mit Krämpfen) oder des Todes sind die Versuchsergebnisse bei 22° in 2 Gruppen und bei 37° in 3 Gruppen eingeteilt. Innerhalb jeder dieser 5 Gruppen sind die Wirkungswerte der Körpertemperatur und der Pupillenerweiterung der Größe nach aufgezeichnet. Am Ende jeder Reihe steht der Mittelwert.

Bei dieser Anordnung ist aus der Abb. 2 folgendes zu entnehmen:

In der Umgebung von 22° sind die körpertemperatursenkende und die mydriatische Wirkung im Durchschnitt bei den mit toxischen Symptomen reagierenden Tieren größer als bei den nicht reagierenden Tieren. Bei 37° wachsen die Mittelwerte der körpertemperatursteigernden und der

mydriatischen Wirkung ebenfalls mit der Stärke der Giftwirkung (nicht toxisch, toxisch, tödlich). Demnach zeigen bei gleicher Umgebungstemperatur die nach der Streuung geordneten Tiergruppen *im Durchschnitt* eine gleichsinige Streuung aller resorptiven Wirkungen.

Während mit der Steigerung der Umgebungstemperatur von 22° auf 37° die thermische Wirkung sich umkehrt und die Giftwirkung zunimmt, ist die maximale mydriatische Wirkung in dem geprüften Temperaturbereich von 15° C von der Umgebungstemperatur unabhängig; sowohl der Mittelwert als auch die Streuung sind bei 22 und 37° nahezu gleich.

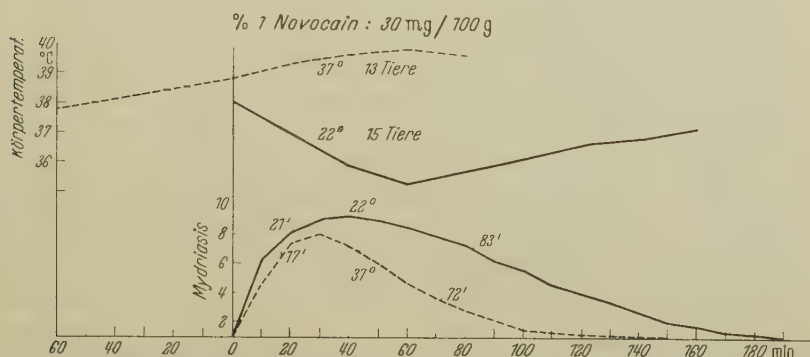


Abb. 3. Zeitwirkungskurven nach den Mittelwerten der an den überlebenden, mit zentraler Lähmung und Krämpfen reagierenden Tieren erhaltenen Ergebnisse. Die Striche mit Minutenangaben bezeichnen die Mittelwerte der Zeit, in welcher die toxischen Wirkungen beginnen und aufhören.

Beim Vergleich der bei 22 und 37° erhaltenen Ergebnisse lassen sich aus Abb. 2 noch folgende Einzelheiten entnehmen:

Die Tiere, die bei 37° toxisch reagieren (ohne zugrunde zu gehen), zeigen im Mittel den gleichen Grad der mydriatischen Wirkung wie die Tiere, die bei 22° keine toxische Wirkung aufweisen, und Ratten, die bei 37° tödlich vergiftet wurden, bieten im Durchschnitt nur unwesentlich größere Pupillenerweiterungen dar als diejenigen, die bei 22° mit Lähmung und Krämpfen reagieren, ohne zugrunde zu gehen.

Abb. 3 gibt den zeitlichen Verlauf der mydriatischen und der thermischen Wirkung bei denjenigen Tieren wieder, die sowohl bei 22° als auch bei 37° nur toxisch, d. h. mit zentraler Lähmung und Krämpfen reagieren und überleben.

Trotz gleicher toxischer Wirkung ist bei diesen Tieren die mydriatische Wirkung bei der in der warmen Umgebung erhöhten Körpertemperatur kleiner und von viel kürzerer Dauer als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. (Bei diesen Tieren sind die Eliminationsvorgänge in der Wärme noch mehr beschleunigt als die Resorption.)

Auch hier ist der Grad der mydriatischen Wirkung, oberhalb dessen die zentralen toxischen manifest sind¹, bei den hyperthermischen Tieren viel kleiner als bei den hypothermischen Tieren.

Bei Mäusen hatten wir früher analoge Beobachtungen gemacht [PULEWKA und BERKAN (2)], jedoch ohne die Körpertemperatur berücksichtigen zu können.

Erörterung.

Aus den beschriebenen Versuchen drängt sich der Schluß auf, daß die mit der Umgebungstemperatur zunehmende Giftigkeit der Lokalanästhetika bei Mäusen und Ratten mit ihrem dämpfenden Einfluß auf die zentrale Wärmeregulation zusammenhängt, wodurch die Tiere schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hypotherm, bei erhöhter Umgebungstemperatur aber hypertherm werden. Daß eine vorübergehende Senkung der Körpertemperatur nicht nur ungefährlich ist, sondern gegenüber manchen Schädigungen „resistenzsteigernd“ wirkt, ist auch klinisch bekannt und wird praktisch verwertet. Für die Erzeugung von Hypothermie zu therapeutischen Zwecken (wie man sie wohl kaum zutreffend als „künstlichen Winterschlaf“ bezeichnet) kann die Anwendung der „Lokalanästhetika“ allein oder in Kombinationen noch größere Bedeutung erlangen als bisher.

Die infolge Schwächung des zentralen Wärmeregulationsapparates in warmer Umgebung tödliche Wirkung von Novocaindosen, die bei gewöhnlicher Zimmertemperatur nicht töten, ist entweder durch Überwärmung allein oder durch kombinierte Wirkung von Hyperthermie und Novocain zu erklären. Der einfache Überwärmungstod dürfte in unseren Versuchen die Ausnahme sein, da die Körpertemperatur nur bei zwei von den zugrundehenden Ratten über 42° anstieg.

Nach ADOLPH beträgt die mittlere Überlebenstemperatur der Umgebung bei 20% relativer Luftfeuchtigkeit und 3stündiger Exposition für Mäuse 38°, für Ratten 43°; in wasserdampfgesättigter Luft beträgt sie für beide Tierarten 38° C. Die mittlere rectale Überlebenstemperatur beträgt bei Ratten 42,5° C.

Zu näherem Verständnis mag folgende Überlegung dienen.

Die oben gezeigte weitgehende, wenn auch nicht bei jedem einzelnen Tier realisierte Gleichsinnigkeit der Streuung aller resorptiven Wirkungen einer Novocaindosis bei *konstanter Raumtemperatur* zeigt an, daß die Größe aller Wirkungen in der Hauptsache von der durch Resorption und Elimination bedingten Konzentration des Giftes im Körper bzw. im Zentralnervensystem abhängt. Jede Wirkung bildet bei konstanter Temperatur ein relatives Maß für die Giftkonzentration. Von diesen Wirkungen ist in dem geprüften Temperaturbereich von 22—37° (vermutlich wegen ihres einfacheren Mechanismus) nur die durchschnittliche

¹ Wir haben diesen Wert als „kritische Mydriasis“ bezeichnet (2, 3).

maximale mydriatische von der Umgebungstemperatur unabhängig. Sie allein kann auch bei *wechselnder* Umgebungstemperatur als ein relatives Maß der im Zentralnervensystem vorhandenen Novocainkonzentration angesehen werden.

Dann ergibt sich aus Abb. 2 (wenn wir andere gezwungenere Betrachtungen beiseite lassen), daß bei gleicher mydriatischer Wirkung, d. h. also bei gleicher Konzentration des Lokalanaesthetikums im Nervensystem die hyperthermischen Tiere stärker toxisch reagieren als die hypothermischen.

Aus Abb. 2 und besonders aus der in Abb. 3 sichtbaren Senkung der „kritischen Mydriasis“ folgt unter den oben gegebenen Voraussetzungen, daß die zur Auslösung der toxischen Wirkung (Lähmung und Krämpfe) nötige Schwellenkonzentration des Lokalanaesthetikums bei den hyperthermischen Tieren viel kleiner ist als bei den hypothermischen.

In der Senkung der kritischen Mydriasis, die wir in Versuchen mit Novocain, Tutocain und anderen Lokalanaesthetika an Ratten und Mäusen (2) beobachtet haben, findet die Zunahme der zentralen Giftwirkung in der Wärme ihren quantitativen Ausdruck. Die kritische Mydriasis stellt ein relatives Maß der Empfindlichkeit des Zentralnervensystems dar, das bei jedem einzelnen Tier durch einen einzigen Versuch bestimmt werden kann.

Die Zunahme der Giftwirkung in der Wärme kommt zustande, obwohl, wie sich aus Abb. 1 und 3 ergibt, die Wirkungsdauer infolge schnellerer Resorption und Elimination verkürzt ist.

Es bleibt jetzt die Frage zu beantworten, wie die größere Empfindlichkeit der hyperthermischen Tiere gegen das Lokalanaesthetikum zu erklären ist. Da sowohl Tod als auch Lähmung mit Krämpfen komplexe Wirkungen sind, können zahlreiche Faktoren eine Rolle spielen, doch dürften, was den Tod angeht, in den meisten Fällen die Verhältnisse einfach liegen. Zur Erklärung der mit der Körpertemperatur zunehmenden Mortalität genügt das Zusammentreffen der stärkeren, auch das Atemzentrum betreffenden, zentralen Lähmung mit der durch Hyperthermie und Krämpfe bedingten Steigerung des Sauerstoffverbrauches. Umgekehrt ist nach unseren Versuchen im Falle der Hypothermie nicht nur die zentrale Lähmung mit Krämpfen erzeugende Wirkung des Novocains an sich schon geringer, die Senkung des Oxydationsstoffwechsels in den Geweben kann auch dazu beitragen, eine durch das Lokalanaesthetikum hervorgebrachte vorübergehende Depression des Atemzentrums zu überstehen.

Die Frage nach dem Mechanismus der zunehmenden zentral lähmenden und krampferzeugenden Wirkung der Lokalanaesthetika bei Hyperthermie muß im Prinzip von der Frage der erhöhten Mortalität getrennt werden. Doch kann auch hier die Hypoxie in der Wärme als entscheidender

Faktor angesehen werden, welche ebenfalls zentrallähmend und krampferzeugend, die unmittelbare zentrale Wirkung der Lokalanaesthetika verstärken kann.

Wie weit zu den genannten Faktoren noch andere kommen können, soll weiter untersucht werden. Zu denken ist unter anderem an den Einfluß der Hyperthermie auf den Wasser- und Salzhaushalt, auf die Kohlenhydratreserven und die Beziehungen zur Nebennierenrindenfunktion.

In jedem Fall ist die Dämpfung der Wärmeregulation durch Lokalanaesthetika das *primum movens* für die Temperaturabhängigkeit ihrer resorptiven Wirkung.

Zusammenfassung.

Ebenso wie bei der Maus nahm auch bei der Ratte die toxische Wirkung der Lokalanaesthetika mit steigender Umgebungstemperatur zu, obwohl der zeitliche Verlauf der resorptiven Wirkung in der Wärme abgekürzt war.

Neben anderen resorptiven Wirkungen wurde der Einfluß des Novocains auf die Wärmeregulation an Ratten messend verfolgt. Dabei ergab sich: Bei konstanter Umgebungstemperatur gingen bei der Untersuchung einer Anzahl von Ratten die thermische, die zentrallähmende und krampferzeugende, die tödliche und die mydriatische Wirkung einander parallel, indem ihre Streuung im ganzen gleichsinnig war. Während die übrigen resorptiven Wirkungen einer Novocaindosis sich mit der Umgebungstemperatur änderten, blieb das durchschnittliche Maximum der mydriatischen Wirkung in dem geprüften Bereich von 22—37° C von der Temperatur unabhängig. Die Zunahme der zentrallähmenden und krampferzeugenden sowie der tödlichen Wirkung des Novocains in warmer Umgebung wurde auf die von dem Lokalanaesthetikum verursachte Dämpfung der zentralen Temperaturregulation zurückgeführt, welche die Tiere bis zu einem gewissen Grade poikilotherm macht. Die in warmer Umgebung tötende Wirkung von bei gewöhnlicher Zimmertemperatur nicht tödlichen Novocaindosen ist in der Hauptsache durch Erstickung infolge des Zusammentreffens zentraler Atmungsstörung mit durch Hyperthermie und Krämpfe gesteigertem Sauerstoffverbrauch zu erklären. Die Zunahme der zentralen Lähmung mit Krämpfen bei den hyperthermen Tieren geht mit einer Erniedrigung der zur Auslösung dieser Wirkungen nötigen Konzentrationsschwelle des Lokalanaesthetikums einher. Dies läßt sich ebenfalls als Anoxiefolge erklären.

Die Bestimmung der „kritischen Mydriasis“ bildet eine Methode, um die Empfindlichkeit des Zentralnervensystems von Ratten und Mäusen gegen die Giftwirkung der Lokalanaesthetika im Einzelversuch zu messen.

Literatur.

ADOLPH, E. F.: Amer. J. Physiol. **151**, 564 (1947); zit. nach Ber. Physiol. **137**, 260 (1949). — GIAJA, J., et S. GELINEO: Arch. internat. Physiol. **37**, 20 (1933); zit. nach GIAJA: Biologie méd. **42** (51. année) Nr. 6, 545 (1953). — GLAUBACH, S., u. E. P. PICK: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **162**, 537, 551 (1931). — POULSSON, E.: HEFFTER-HEUBNERS Handb. d. exp. Pharmacol. II, Teil I, S. 166 (1920). — PULEWKA, P., u. D. BERKAN: (1) Arch. exper. Path. u. Pharmacol. Tagungsbericht **216**, 168 (1952); (2) **217**, 280 (1953). — SIEVERS, R. F., and A. R. MCINTYRE: J. of Pharmacol. **59**, 90 (1937). — WARE, A. G., R. M. HILL and F. H. SCHULTZ: Amer. J. Physiol. **149**, 657 (1947).

Prof. Dr. PAUL PULEWKA, Pharmacol. Institut der Universität Tübingen.

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
(Direktor: Prof. Dr. E. WOLLHEIM).

Die tubuläre Insuffizienz bei der Salyrganvergiftung.

Von

J. MOELLER und M. MARQUART.

(Eingegangen am 17. Dezember 1953.)

Die Vergiftung mit Quecksilberpräparaten führt zur Degeneration und in schweren Fällen zur Nekrose der Tubulusepithelien. Histologisch ist dabei der Glomerulus intakt (SCHLAYER u. HEDINGER). Diese in der klassischen Einteilung als „toxische Nephrose“ (FAHR) oder „akute Nephrose“ (VOLHARD) und vordem von SCHLAYER u. HEDINGER 1907 als „toxische Nephritis“ bezeichnete Krankheit führt zu Funktionsausfällen, wie sie für die tubuläre Insuffizienz (WOLLHEIM, MOELLER) charakteristisch sind.

In neueren Untersuchungen mit der Inulin-Clearance ist die Ansicht vertreten worden, daß die Hauptwirkung der Quecksilberintoxikation auf einer Verminderung des Glomerulusfiltrates beruhe (GUKELBERGER u. TSCHUMI, W. FREY). Diese Autoren fanden 24—48 Std nach einer Sublimatvergiftung die Inulin-Clearance erheblich vermindert, während die Rückresorption, gemessen an der Wasser-, Na- und Cl-Ausscheidung in wesentlich stärkerem Maße als die Glomerulusfiltration abfällt. So kommt trotz verminderter Filtration eine gesteigerte Diurese zustande. Außerdem wurde nach Vergiftung mit Sublimat beim Kaninchen eine verminderte Ausscheidung des tubulär sezernierten Farbstoffes Phenolrot beobachtet (MOELLER u. GABEL). Nach 1—2 cm³ Salyrgan sieht man auch beim Menschen eine Einschränkung der Phenolrotausscheidung (MOELLER u. REX).

Es erhebt sich nun die Frage, ob die nach einer Quecksilbervergiftung auftretende Niereninsuffizienz durch eine Verminderung der Filtration bedingt ist, wie es W. FREY u. GUKELBERGER annehmen, oder ob es sich um eine tubuläre Rückresorptionsurämie (MOELLER) handelt, wofür der histologische Befund sprechen würde. Zur Klärung dieser Frage wurden beim Kaninchen vor und nach Vergiftung mit Salyrgan die Inulin- und Harnstoff-Clearance verfolgt. Die Inulin-Clearance wurde als Maß der glomerulären Filtration und der Harnstoff als Clearance-Substanz gewählt, da dieser zunächst filtrierte und dann tubulär rückresorbiert wird. Ein Teil der Nieren wurde nach den Versuchen histologisch untersucht.

Methodik.

Es wurden 8 männliche Kaninchen mit einem Gewicht von 1350—2950 g verwendet. Während der Zeit der Untersuchungen wurde ein Teil der Tiere überwiegend mit Hafer, der andere Teil vor allem mit Gras und Heu gefüttert. Wie früher schon ausführlich beschrieben, wurden die Tiere in oberflächlicher Narkose mit physiologischer Kochsalzlösung belastet (MOELLER u. GABEL).

Da beim Kaninchen die Diurese erst etwa 1—1½ Std nach Aufnahme größerer Wassermengen einsetzt, wurden 1½ Std nach der Wasserbelastung 250 mg Inulin in 10% iger Lösung in die Ohrrendvene injiziert¹. Etwa 40 min später nahmen wir die erste Blutentnahme vor und katheterisierten unmittelbar anschließend mit einem dünnen, halbfesten Katheter mit Mercierkrümmung. Nach weiteren 30 min wurde zum zweiten Mal Blut entnommen und katheterisiert. Um die Blutgerinnung zu verhindern, versetzten wir das Blut sofort mit Oxalat.

1. Inulin-Clearance.

Da bei einmaliger Injektion im abfallenden Inulin-Blut-Spiegel untersucht wurde, war für die Inulin-Clearance die oben angegebene zweimalige Blut- und Urinentnahme nötig.

Das Inulin in Blut und Urin bestimmten wir nach der Methode von ROE, EPSTEIN und GOLDSTEIN. Die Berechnung erfolgte nach O. OLBRICH, M. H. FERUGSON, J. S. ROBSON und C. P. STEWART. Bei dieser ist die renale Inulin-Clearance gegeben durch die Formel:

$$C_{In} = \frac{b (\log_{10} P_1 - \log_{10} P_2)}{\log_{10} V_{In_1} - \log_{10} V_{In_2}} - b \cdot 100.$$

Dabei bedeutet P_1 bzw. P_2 die Inulinkonzentration in mg% im Plasma zu den Blutentnahmezeiten t_1 bzw. t_2 . V_{In_1} und V_{In_2} sind die Verteilungsvolumina; sie ergeben sich aus dem zu den Entnahmezeiten im Körper noch verbliebenen Inulin, geteilt durch die zur gleichen Zeit vorliegende Plasma-Inulin-Konzentration. Die im Körper verbliebene Inulinmenge erhält man durch Subtraktion des bis zu jenem Zeitpunkt ausgeschiedenen von dem gespritzten Inulin. Die ausgeschiedene Inulinmenge wiederum errechnet sich aus der ausgeschiedenen Urinmenge in cm³ mal der Urin-Inulin-Konzentration. Der Faktor

$$b = \frac{V_{In_2} - V_{In_1}}{t_2 - t_1}.$$

Obwohl wir wissen, daß Inulin mit einem Mol-Gewicht von 3800—5000 die Erythrocytenmembran nicht passiert, verwendeten wir zur Inulinbestimmung im Blut mit Oxalat versetztes Vollblut. Aus der Ohrrendvene des Kaninchens sind trotz Reiben mit xylolgetränktem Tupfer bei öfterem Wiederholen des Untersuchungsganges größere Blutmengen nicht mit Sicherheit zu entnehmen. Dieser Fehler mußte in Kauf genommen werden.

2. Harnstoff-Clearance.

Die Harnstoffbestimmung in Blut und Urin wurde nach der Methode von BÖHM und GRÜNER durchgeführt. Da während der Untersuchungsperiode der Harnstoffspiegel im Blut als gleichbleibend anzunehmen ist, verwendeten wir zur Bestimmung des Harnstoffspiegels Blut von der zur Zeit t_1 oder t_2 entnommenen Blutportion. Dagegen wurde der Urin für die Harnstoffbestimmung von der zweiten Urinportion genommen, da sich von dieser Urinmenge, die in genau bestimmter Zeit vom ersten bis zum zweiten Katheterismus genommen wurde, das Minutenvolumen an ausgeschiedenem Urin errechnete.

¹ Wir danken der Laevosangesellschaft Linz für die freundliche Überlassung des Inulins.

Nach ein oder zwei Normalbestimmungen der Clearance-Werte wurden bei Tier Nr. 1 6 mg, bei allen anderen Tieren 7 mg Salyrgan/kg Körpergewicht intravenös gespritzt. Im Gegensatz zu den Autoren, welche die Clearance-Untersuchung nach Quecksilbervergiftung nur einmal, und zwar im Verlaufe der ersten 24—48 Std durchgeführt hatten, verfolgten wir über mehrere Tage nach der Salyrganinjektion die Clearance-Werte und den Harnstoffspiegel im Blut. Außerdem erhoben wir bei jeder Untersuchung einen Sedimentbefund und achteten auf das Maß der Diurese.

Ergebnisse.

Unsere Normalwerte der Inulin-Clearance beim Kaninchen liegen mit $10,3 \pm 1,67$ etwas niedriger als die von GUKELBERGER u. TSCHUMI mit $14,33$. Wir führen das auf die Verwendung von Vollblut an Stelle von Plasma zurück. Die normalen Harnstoff-Clearance-Werte bewegen sich mit $3,35 \pm 0,82$ etwas über dem von GUKELBERGER u. TSCHUMI gefundenen Wertbereich von $2,35$. Der Blutharnstoff variierte je nach Fütterung sehr wesentlich. Bei Verfütterung von Hafer lag er zwischen 30 und 50 mg%. Dagegen betrug er, wenn ausschließlich Gras und Heu verfüttert wurde, nur 12—20 mg%. Dieser Befund stimmt mit dem überein, was von ADDIS festgestellt wurde.

Kaninchen Nr. 1, Gewicht 2750 g; Fütterung: Kleeheu und Rüben.
Salyrgandosis: 6 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
18. 3. 9 ⁰⁰	0,6	12	3,85 100	9,13 100	Epith., Bakt.
20. 3. 9 ⁴⁰	Salyrganinjektion				
22. 3. 9 ⁰⁰	0,1	76	1,08 28	10,57 102	Riesenzyl. 1—2 Leukoc., Salze
27. 3. 9 ¹⁰	0,06	24	3,62 94	11,7 125	Hefen, Bakt., Leukocyten

Histologische Untersuchungen liegen nicht vor, da das Tier nicht getötet wurde.

Kaninchen Nr. 2, Gewicht 2770 g; Fütterung: Hafer, etwas Heu.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
11. 8. 8 ²⁰	0,038	38	3,15 100	9,2 100	o. B.
11. 8. 15 ⁴⁵	Salyrganinjektion				
13. 8. 8 ³⁵	0,028	51	1,1 34	3,6 39	Riesenzyl., gran. Zyl., einzel. Leukoc.
14. 8. 8 ⁵⁵	0,14	30,8	2,5 79	13,7 148	Riesenzyl., vereinz. Eryth. u. Leukoc.

Histologischer Befund. Glomeruli zeigen keinerlei Veränderungen; Tubuli insgesamt erweitert, in den Hauptstücken gering Eiweiß. Markepithelien intakt; keine Hyperämie.

Kaninchen Nr. 3, Gewicht 2950 g; Fütterung: Hafer, wenig Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
28. 7. 9 ⁵⁵	0,45	47,5	3,7 100	10,13 100	Salze
29. 7. 9 ⁵⁰	Salyrganinjektion				
31. 7. 8 ⁵⁰	0,23	55	1,2 32	3,28 32	Riesenzyl. Salze
1. 8. 9 ³⁵	0,3	60	2,7 73	9,13 50	Riesenzyl. Epithel., Leukocyten

Histologische Untersuchungen wurden nicht gemacht.

Kaninchen Nr. 4, Gewicht 2800 g; Fütterung: Hafer, wenig Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
2. 5. 9 ⁵⁰	0,15	30	4,4 100	9,54 100	Salze
3. 5. 11 ³⁰	Salyrganinjektion				
5. 5. 11 ²⁰	0,02	53,3	2,8 63	3,54 36	Riesenzyl., Salze
8. 5. 9 ¹⁰	0,18	45	3,2 72	10,38 108	Salze, Epithelien

Kaninchen Nr. 5, Gewicht 2950 g; Fütterung: Hafer, wenig Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
2. 8. 8 ⁵⁰	0,13	42	3,2 100	12,7 100	Salze
3. 8. 16 ³⁰	Salyrganinjektion				
6. 8. 8 ²⁵	0,4	52	2,8 87	0,7 5,5	Leucinkugeln, Riesenzyl., Epithelien.
8. 8. 8 ⁴⁰	0,13	36	0,97 30	1,09 8,5	Riesenzyl., Bakt., Epithelien

Histologischer Befund. Unregelmäßige Lagerung der Hauptstückepithelien mit Epithellücken, stellenweise deutliche Erweiterung besonders der dicken Schleifenschenkel und der Hauptstücke, hin und wieder Eiweiß in den Hauptstücken, wie auch in den dünnen und dicken Schleifenschenkeln. In den Schaltstücken stellenweise große Eiweißzylinder. Glomeruli intakt.

Kaninchen Nr. 6, Gewicht 1350 g; Fütterung: Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
16. 8. 9 ⁰⁰	0,37	16	1,8 100	8,7 100	Salze
16. 8. 15 ¹⁰	Salyrganinjektion				
19. 8. 9 ¹⁵	0,13	32	1,3 72	9,3 107	Riesenzylinder, selten Leukocyten

Histologischer Befund. Mäßige Hyperämie, Glomeruli intakt. Erweiterte Hauptstücke, vereinzelt Eiweiß in den Hauptstücken. Markstrahlen intakt. Kein Marködem. Bei v. GISON-Färbung: gelb-rötliche Eiweißzylinder, besonders in den dicken Schleifenschenkeln.

Kaninchen Nr. 7, Gewicht 2020 g; Fütterung: Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
16. 7. 10 ²⁵	0,03	12,5	4,1 100	13,6 100	Bakterien, Salze
17. 7. 12 ³⁰	Salyrganinjektion				
18. 7. 9 ⁰⁰	0,03	30	0,81 19	2,7 20	Riesenzyl., Epithel. Leukocyten
21. 7. 8 ⁵⁵	0,1	33	1,2 29	10,04 73	Riesenzyl., gran. Zyl., Epithelien
6. 8.	0,2	34	3,3 78	10,8 80	Salze, Epithelien
6. 8. 16 ²⁰	2. Salyrganinjektion				
8. 8. 10 ⁰⁰	0,8 (!)	28	6,9 168	9,5 70	Epithelien Gew. spec.1001!

Histologischer Befund. Glomeruli intakt, deutlich hyperämisch, füllen massiv den Capillarraum aus, nicht zellvermehrt. Hauptstücke etwas trüb geschwollen, mit eiweißhaltigem Material gefüllt, ohne wesentlichen Kernverlust.

Eingedicktes Eiweiß in den dünnen Schleifenschenkeln und in den Sammelröhren. Die vasa recta neben den Tubuli recti zeigen venöse Stase, sind prall mit Serum gefüllt.

Kaninchen Nr. 8, Gewicht 2020 g; Fütterung: Gras.
Salyrgandosis: 7 mg/kg Körpergewicht.

Tag und Zeit	Aus- geschiedene Urinmenge cm ³ /min	Harnstoff im Blut in mg%	Harnstoff- Clearance cm ³ /min %	Inulin- Clearance cm ³ /min %	Sediment
18. 7. 10 ³⁰	0,1	15	2,5 100	9,05 100	Salze
18. 7. 17 ⁴⁵	Salyrganinjektion				
21. 7. 10 ³⁰	0,07	36,5	0,48 19	7,5 82	Riesenzyl., Epithel., Erythrocyten
6. 8. 10 ⁰⁵	0,075	22	2,3 92	10,3 114	Salze, Leukocyten
6. 8. 16 ²⁵	2. Salyrganinjektion				
8. 8. 8 ³⁰	0,65(!)	24	2,7 108	9,8 110	Epithelien selten Zylinderstücke
12. 8. 9 ³⁰	0,07	25	2,5 100	8,9 99	Zylinderstücke, Salze

Histologischer Befund. Glomeruli intakt, füllen massiv den Capillarraum aus, nicht zellvermehrt. Hauptstücke trüb geschwollen, mit eiweißhaltigem Material gefüllt.

Mäßiges Marködem, in den marknahen Hauptstücken deutliche Nephrohydropse. In den dünnen Schleifenschenkeln und in den Sammelröhren etwas eingedicktes Eiweiß. Venöse Stase in den vasa recta neben den Tubuli recti; die Gefäße sind prall mit Serum und wenigen Erythrocyten gefüllt.

Diskussion.

Es konnte gezeigt werden, daß beim Kaninchen nach Verabreichung von 7 mg Salyrgan/kg der Harnstoff im Blut ansteigt und die Harnstoff-Clearance im Blut sich gleichzeitig um durchschnittlich 61,1% vermindert. Diese Vergiftungserscheinungen waren bei der Untersuchung 38 bis 48 Std nach der Salyrgangabe am deutlichsten ausgeprägt. Bei der gleichen Untersuchung fand sich auch die Inulin-Clearance von ihrem Durchschnittswert von $10,03 \pm 1,65$ auf durchschnittlich $4,12 \pm 1,59$, also auf 41% ihres Ausgangswertes vermindert (Tab. 9).

Tabelle 9.

Durchschnittliche Clearance-Werte gewonnen von den Tieren Nr. 2, 3, 4, 6, 7 und 8.

	Harnstoff-Clearance		Inulin-Clearance	
	cm ³ /min	%	cm ³ /min	%
Normalwert	$3,27 \pm 0,91$	100	$10,03 \pm 1,65$	100
2. Tag nach Salyrgan	$1,28 \pm 0,8$	38,9	$4,12 \pm 1,59$	41,07
3. Tag nach Salyrgan oder später	$2,2 \pm 0,72$	67,2	$10,47 \pm 1,52$	104,18

Bei der Untersuchung nach weiteren 24 Std, also am 3. Tag nach der Salyrganapplikation, zeigte die Inulin-Clearance wieder Normalwerte bzw. war sogar auf einen Durchschnittswert von 104,18% angestiegen (Tab. 9). Im Gegensatz dazu blieb die Harnstoff-Clearance durchschnittlich noch um 33% hinter dem ursprünglichen Wert zurück. Auch der Harnstoffspiegel im Blut normalisierte sich nur langsam, obwohl die Inulin-Clearance wieder normal war.

Ausnahmen von diesem Verlauf bildeten Tier Nr. 1 und Nr. 5, die daher in Tab. 9 nicht berücksichtigt sind. Bei Kaninchen Nr. 1 wurden nur 6 mg Salyrgan/kg Körpergewicht gespritzt. Bei der ersten Untersuchung 38 Std nach der Salyrganinjektion fand sich zwar der Blutharnstoff stark erhöht, und auch die Harnstoff-Clearance war, wie in den Fällen, in denen 7 mg/kg gespritzt worden war, auf 28% abgesunken. Im Gegensatz dazu war die Inulin-Clearance mit $10,7 = 125\%$ des Ausgangswertes völlig normal. Der weitere Verlauf stimmt mit den übrigen Fällen überein.

Tier Nr. 5 zeigte schwerere Vergiftungserscheinungen als in der Regel, obgleich nur 7 mg Salyrgan/kg Körpergewicht gespritzt worden waren. Die Inulin-Clearance fiel innerhalb der ersten 3 Tage nach der Salyrganapplikation auf den außergewöhnlich niedrigen Wert von 0,7 ab und blieb auch nach weiteren 24 Std absolut niedrig. Im Sediment erschienen außer Riesenzylindern und Epithelien auch Leucinkugeln. Die Harnstoff-Clearance fiel auch am 3. Tag nach der Salyrganapplikation noch weiter ab. Trotz verringerter Harnstoff-Clearance sank jetzt auch der

Blutharnstoff; dies könnte vielleicht als Zeichen der gehemmten Harnstoffsynthese in der Leber gedeutet werden.

Wodurch kommt nun die in allen Fällen beobachtete Minderung der Harnstoff-Clearance mit dem Anstieg des Blutharnstoffs zustande? W. FREY u. GUKELBERGER halten eine glomeruläre Funktionseinschränkung für die hauptsächliche Ursache, wobei von GUKELBERGER der mechanische Faktor der Verstopfung durch die Eiweißzylinder diskutiert wird. Diese Vorstellung ist im Prinzip wohl schon von COHNHEIM angezweifelt worden, wenn er sagt: „nicht, weil die Zylinder in den Harnkanälchen stecken, versiegt die Harnabsonderung, sondern wenn die Harnabsonderung abnimmt, bleiben die Zylinder am ehesten in den Kanälchen sitzen“. Die Ursache der verminderten Harnabsonderung, ob eine vermehrte tubuläre Rückdiffusion oder eine glomeruläre Filtrationshemmung, bleibt aber offen.

Gegen die Deutung von W. FREY spricht die Tatsache, daß die Inulin-Clearance am 3. Tag nach der Salyrganinjektion wieder den Normalwert erreicht hatte, während die Harnstoff-Clearance mit 67,2% des Ausgangswertes noch erheblich vermindert blieb. Zu diesem Zeitpunkt besteht also, gemessen an der Inulin-Clearance, ein normales Glomerulusfiltrat. Wenn trotzdem bei erhöhtem Blutharnstoff zu wenig Harnstoff im Urin erscheint, d. h., wenn trotzdem die Harnstoff-Clearance zu niedrig ist, muß der Harnstoff im Tubulus rückdiffundieren. Bei Tier Nr. 1 war die Inulin-Clearance überhaupt nicht eingeschränkt, trotzdem stieg der Harnstoff im Blut stark an. Dies kann nur durch eine vermehrte Rückdiffusion erklärt werden.

Während FAHR das Quecksilber als Epithelgift betrachtete, fanden SCHIMERT u. WANADSIN bei spezifischer Färbung das Quecksilber nur in den terminalen Abschnitten der Capillaren und nicht in den Epithelzellen selbst. Es könnte demnach das Quecksilber über die Vasomotoren wirken. So könnte man sich vorstellen, daß eine Stase oder Peristase in den Präcapillaren zu einer Einschränkung der Filtration führt, als deren Ausdruck die vorübergehend verminderte Inulin-Clearance zu deuten wäre. Von den Tubulusepithelien ist es aus früheren Untersuchungen bekannt, daß diese auf Hypoxie mit einer tubulären Insuffizienz reagieren (MOELLER u. REX). Es konnte von uns nachgewiesen werden, daß die Phenolrotausscheidung, die eine Sekretionsleistung der Tubulusdrüsenzelle darstellt, nach Sublimatvergiftung ebenfalls stark vermindert ist; auch der Sedimentbefund mit Riesenzylindern, Leukocyten und Erythrocyten war typisch für eine tubuläre Insuffizienz. Daß außerdem auch die Membranfunktion geschädigt ist, wird durch die Untersuchungen von RICHARDS belegt. Es gelang RICHARDS, nach Hg-Intoxikation aus der BOWMANSchen Kapsel einen qualitativ unveränderten Primärharn zu punktieren. Mit Hilfe dieser Versuchsergebnisse dürfte eigentlich bewiesen

sein, daß der Abfall der Harnstoff-Clearance auf einen Ausfall der normalen Tubulusfunktion zu beziehen ist.

Worin hat die verminderte Inulin-Clearance, wie sie 48 Std nach der Salyrganapplikation zu finden ist, ihre Ursache?

Sie könnte einmal Ausdruck einer durch Stase bedingten Beeinträchtigung der Glomerulusfiltration sein. Andererseits besteht die Möglichkeit, daß Inulin durch die geschädigten Tubuluswände rückdiffundiert, wie wir dies vom Wasser, vom Harnstoff, von Na- und Cl-Ionen wissen. Im letzteren Fall würde ein vermindertes Glomerulusfiltrat nur vorgetauscht.

Diese Möglichkeit wird durch die Versuchsergebnisse bei Tier Nr. 5 besonders deutlich. Wir sehen im histologischen Bild eine unregelmäßige Lagerung der Hauptstückepithelien mit Epithellücken. Es besteht also in diesem Fall nicht nur eine Schädigung im Protoplasma, sondern sogar eine Auflösung der Struktur. Die Funktionsprüfungen zeigen: Absinken der Inulin-Clearance von 12,7 auf den außerordentlich geringen Wert von 0,7 innerhalb der ersten 3 Tage; der Harnstoffspiegel zeigt mit 52 mg% und die Harnstoff-Clearance mit 87% des Ausgangswertes den in allen anderen Fällen charakteristischen Verlauf. Nach weiteren 2 Tagen, also am 5. Tag nach der Salyrganinjektion ist die Inulin-Clearance immer noch auf einem Wert von 1,09, die Harnstoff-Clearance ist auf 30% des ursprünglichen Wertes abgesunken. Überraschenderweise ist der Glomerulus anatomisch völlig intakt. Daher kann in diesem Falle die so stark herabgesetzte Inulin-Clearance genau so wie die verminderte Harnstoff-Clearance auf die weitgehende Zerstörung der Struktur des Harnkanälchens zurückgeführt werden, da dabei die Möglichkeit der freien Rückdiffusion für alle Stoffe besteht, und nicht auf eine verminderte Filtration bezogen werden.

Daß auch der vorübergehende Abfall der Inulin-Clearance im Sinne einer Rückdiffusion durch die zerstörte Membran zu deuten ist, belegt der Fall Nr. 1. Nach der Salyrgandosierung von 6 mg/kg Körpergewicht war die Inulin-Clearance bei der ersten Untersuchung 38 Std nach der Salyrganapplikation normal. Man könnte sich nun vorstellen, daß durch diese Dosis die Schädigung nicht so erheblich ist und daß dadurch für das hochmolekulare Inulin noch keine Möglichkeit zur Rückdiffusion besteht, während der leicht diffusible Harnstoff in vermehrter Weise rückdiffundiert.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe der Inulin- und Harnstoff-Clearance wurde an 8 Kaninchen die Nierenfunktion vor und nach einer Salyrganinjektion bis zu 5 Tagen nach der Vergiftung geprüft. Ein Tier erhielt 6 mg, die übrigen 7 mg Salyrgan/kg Körpergewicht.

Ergebnisse:

1. In den ersten 2 Tagen nach der Vergiftung kommt es in fast allen Fällen zu einem Abfall der Harnstoff- und Inulin-Clearance bis auf einen Wert von etwa 30% des Ausgangswertes. Gleichzeitig erhöht sich der Harnstoffspiegel im Blut, und es ist ein erheblicher Sedimentbefund vorhanden.

2. Die Inulin-Clearance hat 72 Std nach der Vergiftung wieder normale Werte erreicht, während die Harnstoff-Clearance noch deutlich eingeschränkt bleibt. Der Harnstoffspiegel im Blut ist zu dieser Zeit noch bei fast allen Tieren erhöht.

3. Die histologische Untersuchung der Nieren ergab am Glomerulus keine pathologischen Veränderungen. Im Gegensatz dazu waren aber an den Tubuli erhebliche Degenerationen zu sehen.

Aus diesen Befunden wird gefolgert, daß die Salyrganvergiftung keine Verminderung des Glomerulusfiltrates, sondern eine tubuläre Insuffizienz mit vermehrter Rückdiffusion hervorruft. Das verringerte Glomerulusfiltrat würde bei dieser Annahme nur vorgetäuscht, da das Inulin mit dem Primärharn wieder rückdiffundieren kann. Andererseits könnte die im akuten Stadium verminderte Filtration auch durch eine Stase bedingt sein.

Literatur.

- ADDIS, T.: The Glomerular-Nephritis. New York: McMillan Comp. 1949, 83.
 — BÖHM, F., u. G. GRÜNER: Biochem. Z. **287**, 65 (1936). — COHNHEIM, O.: Allg. Pathol. II, 2. Aufl., 333. — FAHR, Th.: In BECHER, W.: Nierenkrankheiten. Bd. I, 578. — FREY, W.: Klin. Wschr. **1951**, 262. — Handbuch der Inn. Med., Bd. 8. Berlin: Springer 1951. — GABEL, H., u. J. MOELLER: Z. exp. Med. (im Druck). — GUKELBERGER, M., u. F. BELLAG: Z. exper. Med. **111**, 405 (1942). — GUKELBERGER, M., u. E. SANZ: Z. exper. Med. **110**, 98 (1941). — GUKELBERGER, M., u. H. TSCHUMI: Schweiz. med. Wschr. **1944**, 32. — MOELLER, J.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **214** (1952). — MOELLER, J., u. W. REX: Z. klin. Med. **150**, 103 (1952). — OLBRICH, O., M. H. FERUGSON, J. S. ROBSON u. C. P. STEWART: Lancet **1950**, 565. — RICHARDS, A. N.: Trans. Assoc. Amer. Physicians **44**, 64 (1929). — ROE, J. H., I. E. EPSTEIN u. N. P. GOLDSTEIN: J. of Biol. Chem. **178**, 839 (1949). — SCHIMERT, P., and B. WANADSIN: Klin. Wschr. **1950**, 330. — SCHLAYER u. HEDINGER: Dtsch. Arch. klin. Med. **90**, 1 (1907). — VOLHARD, F.: Handbuch f. Inn. Med., Bd. 7, 1931. — WOLLHEIM, E.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **211** (1952). — Helvet. med. Acta **18**, 340 (1951).

Priv.-Doz. Dr. J. MOELLER, Würzburg, Med. Univ.-Klinik.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Wirkung verschiedener Sympathicomimetica auf die chemisch und elektrisch ausgelöste Erregung des oberen Halsganglions.

Von

H. KEWITZ und H. REINERT.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. September 1953.)

In einer vorangehenden Veröffentlichung (KEWITZ und REINERT 1952) haben wir unter anderem über die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin auf das isoliert durchströmte obere Halsganglion berichtet, das aus sogenannten cholinergischen Synapsen besteht. Beide Hormone verstärken die durch Acetylcholininjektion hervorgerufene Erregung, hemmen dagegen die Übertragung der durch submaximale elektrische präganglionäre Sympathicusreizung ausgelösten Erregungen. Ähnliche Wirkungen sind mehrfach in der Literatur beschrieben. Ihr Mechanismus ist bisher noch nicht aufgeklärt worden. Natürlich liegt es nahe, bei Funktionsänderungen cholinergischer Ganglien an Beeinflussungen der Acetylcholinbildung oder Hydrolyse zu denken. Durch Hemmung der Acetylcholinesteraseaktivität, wie sie BENSON und MEEK beobachteten, können die Effekte jedoch nicht zustande kommen, weil dazu höhere Dosen notwendig sind. Außerdem haben wir bei unseren in dieser Arbeit ausgeführten Untersuchungen mit Adrenalinderivaten festgestellt, daß Acetylcholin für die Erregungsübertragung nicht unbedingt notwendig ist.

Wir verwendeten die in der ersten Mitteilung (KEWITZ und REINERT) beschriebene Methode zur Durchströmung des oberen Halsganglions und prüften die Einwirkung mehrerer Sympathicomimetica auf die durch Acetylcholin ausgelöste Erregung und auf die Übertragung der durch präganglionäre Sympathicusreizung erzeugten Erregung.

Nach der Theorie wird Acetylcholin an den im Ganglion endenden Nervenfasern freigesetzt und bewirkt die Erregung des peripheren Neurons der Synapse. Erregungshemmungen im Ganglion könnten danach auf verschiedenen Wegen zustande kommen und durch die beiden verwendeten Erregungsformen grob nach ihrem Angriffspunkt getrennt werden. Verminderung der elektrisch ausgelösten Erregung kann im zentralwärts gelegenen Anteil der Synapse durch Hemmung der Acetylcholinbildung oder Freisetzung im peripheren Anteil durch Verringerung der Acetylcholinempfindlichkeit oder Dauerpolarisation bedingt sein. Liegt die Ursache einer Störung im peripheren Neuron, dann

sollte auch eine Verminderung der durch Acetylcholin hervorgerufenen Erregung eintreten. Ist dagegen durch ein Pharmakon die Synthese oder Freisetzung des Acetylcholins gestört, so kann die Empfindlichkeit für injiziertes Acetylcholin unverändert, gesteigert oder vermindert sein. Nach der zur Zeit in allen Lehrbüchern vertretenen Theorie ist es aber nicht möglich, daß die Überträgerfunktion des Ganglions unverändert, die Acetylcholinempfindlichkeit im gleichen Augenblick jedoch herabgesetzt ist.

Wir haben mit den sympathicomimetisch wirkenden Substanzen Hordenin, Pervitin und Bazedrin derartige Wirkungen erzielt. Sie wirken erregend wie Acetylcholin. Diese Erregung wird nach jeder Reinjektion kleiner und bleibt nach der ersten, zweiten oder dritten häufig

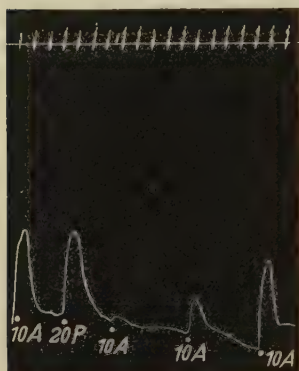


Abb. 1. Nickhautkontraktionen. (10 A) 10 γ Acetylcholin; (20 P) 20 γ Pervitin; Zeit: 30 sec.



Abb. 2. Zwischen ($\uparrow$) und ($\downarrow$) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,1 mA, 2 Impulsen von 15 msec Dauer pro Sekunde. (100 H) 100 γ Hordenin. (10 Ach) 10 γ Acetylcholin; Zeit 30 sec. Der abwärts gerichtete Kurvenverlauf im zweiten Teil der elektrisch ausgelösten Kontraktionen ist durch einen spontan aufgetretenen Tonuswechsel des Nickhautmuskels zu erklären, der schon vor Beginn der Kontraktion zu erkennen ist.

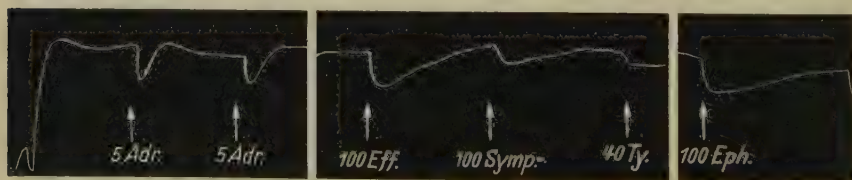
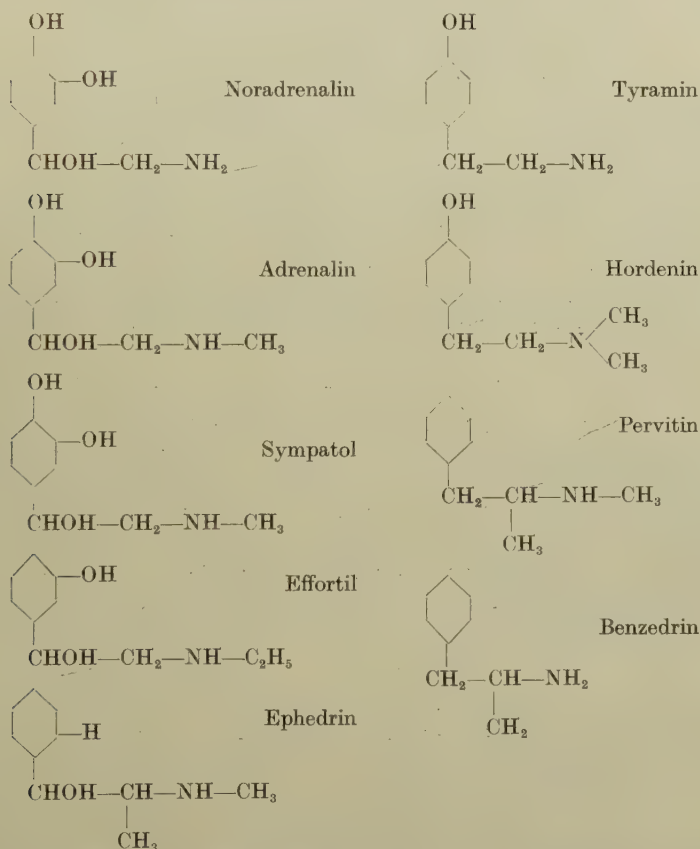


Abb. 3. Nickhautdauerkontraktion, ausgelöst durch präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,03 mA, 3 Impulsen von je 12 msec in 2 sec. (5 Adr.) 5 γ Adrenalin; (100 Eff) 100 γ Effortil; (100 Symp) 100 γ Sympatol; (40 Ty) 40 γ Tyramin; (100 Eph) 100 γ Ephedrin.

ganz aus. Gleichzeitig ist auch mit Acetylcholininjektionen, die vorher gut wirksam waren, keine Nickhautkontraktion zu erreichen. Ein Beispiel ist in Abb. 1 gezeigt. Diese Lähmung hält je nach der Dosis 5—10—20 min an. Man sieht in Abb. 2, daß im gleichen Augenblick die Überträgerfunktion für elektrisch ausgelöste Erregungen noch vollständig erhalten ist.

Alle weiteren von uns untersuchten Stoffe dieser Klasse von Verbindungen wirken ähnlich wie Adrenalin und Noradrenalin. Sympatol, Effortil, Ephedrin und Tyramin ließen zwar die Steigerung der Acetylcholin-erregung vermissen, hemmten jedoch die Überträgerfunktion. Man benötigt dazu allerdings höhere Dosen als mit den Hormonen. Über Einzelheiten der Dosierung unterrichtet Abb. 3.



Zwischen der chemischen Struktur der geprüften Pharmaka und ihrer Wirkung auf sympathische Ganglien bestehen keine Beziehungen. Die in der Tabelle dargestellten Formeln zeigen, daß weder die phenolischen

Hydroxylgruppen noch die Anwesenheit einer Alkoholgruppe, noch die Länge der Seitenkette oder die Substitution an der Aminogruppe entscheidenden Einfluß ausüben.

Eine Erklärung unserer Ergebnisse ist zur Zeit noch nicht möglich; es kann abschließend nur festgestellt werden, daß der Überträgermechanismus ungehindert ablaufen kann zu einem Zeitpunkt, in dem die Acetylcholinempfindlichkeit herabgesetzt ist. Damit ist eine wesentliche Diskrepanz zwischen der Acetylcholintheorie und den experimentellen Befunden aufgezeigt.

Zusammenfassung.

Am isoliert durchströmten oberen Halsganglion der Katze fördern Adrenalin und Noradrenalin die Acetylcholinerregung, hemmen dagegen die Übertragung präganglionär elektrisch ausgelöster Erregungen. Die Derivate Sympatol, Effortil, Tyramin und Ephedrin haben in etwa 10facher Dosis nur die hemmende Wirkung auf den Überträgermechanismus und steigern nicht die Acetylcholinwirkung.

Pervitin, Benzedrin und Hordenin führen zu einer Erregung. Danach ist im Gegensatz zur Adrenalinwirkung die Acetylcholinempfindlichkeit herabgesetzt, nicht jedoch die Überleitung präganglionär gesetzter Erregungen.

Auf die Diskrepanz zwischen diesen Ergebnissen und der Acetylcholintheorie der Überträgerfunktion wird hingewiesen.

Literatur.

BENSON, W. M., and W. J. MEEK: Hydrolysis of choline esters in the presens of adrenalin. *Amer. J. Physiol.* **158**, 327 (1949). — KEWITZ, H., u. H. REINERT: Prüfung pharmakologischer Wirkungen am oberen sympathischen Halsganglion bei verschiedenen Funktionszuständen. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **215**, 547 (1952).

Dr. HELMUT KEWITZ, Berlin-Dahlem,
Pharmakologisches Institut der Freien Universität, Thielallee 69—73.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Differenzierung zwischen der Acetylcholin- erregung und der Überträgerfunktion sympathischer Ganglien mit Hilfe verschieden zusammengesetzter Durch- strömungsflüssigkeiten.

Von

HELMUT KEWITZ und HARALD REINERT.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. September 1953.)

Nach vorhergehenden eigenen Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung sympathischer Ganglien (KEWITZ u. REINERT) und einer Arbeit von KAHLSON und MCINTOSH schien es möglich, daß Veränderungen im Glucose- oder Mineralstoffwechsel entscheidende Bedeutung für die Funktion sogenannter cholinergischer Synapsen haben. Wir versuchten deshalb am isoliert durchströmten oberen Halsganglion der Katze mit der schon beschriebenen Methode (KEWITZ u. REINERT) Anhaltspunkte für diese Vermutung zu finden. Unter verschiedenen Bedingungen prüften wir die Veränderungen der durch Acetylcholin hervorgerufenen Erregungen und der Übertragung präganglionär elektrisch induzierter Sympathicuserregungen.

Untersuchungen mit glucosefreier Salzlösung. Zur Orientierung über die Bedeutung der Glucose für die Funktion sympathischer Ganglien wurde eine Versuchsserie durchgeführt, bei der sich in der Durchströmungsflüssigkeit keine Glucose befand. Es zeigte sich dabei, daß nach 30—60 min dauernder Durchströmung die Acetylcholinempfindlichkeit bedeutend geringer wurde, während die elektrisch ausgelöste Erregung ungestört, mitunter sogar verstärkt übertragen werden konnte. Dies ist in Abb. 1a—d zu sehen.

KAHLSON und MCINTOSH benötigten in ihren mit höherer Reizfrequenz ausgeführten Experimenten Glucose für den normalen Ablauf des Überträgermechanismus. Aber LAPORTE und LORENTE DE NÓ, mit denen wir übereinstimmen, haben ebenfalls keinen Einfluß der Glucosekonzentration auf die Überträgerfunktion beobachtet.

In unseren Versuchen zeigte sich also eine Funktionsänderung, die theoretisch nicht möglich sein dürfte. Wenn Acetylcholin die Substanz ist, die bei der Erregungsübertragung an den Endigungen des zentral gelegenen Neurons freigesetzt werden und direkt das periphere Neuron

erregen soll, dann müßte durch eine Verminderung der Acetylcholinempfindlichkeit die Übertragung elektrischer Erregungen gestört sein. Mit der Theorie würden unsere Ergebnisse nur übereinstimmen, wenn gleichzeitig mit der verminderten Acetylcholinempfindlichkeit eine vermehrte Synthese oder Freisetzung von Acetylcholin Schritt halten würde.

FELDBERG (1950) zitiert *in vitro*-Versuche von MANN, ELMENBAUM und QUADEL in denen die Acetylcholinsynthese bei einer Glucosekonzentration von 10 mg % stärker ist als bei 100 mg%. Diese Befunde sind

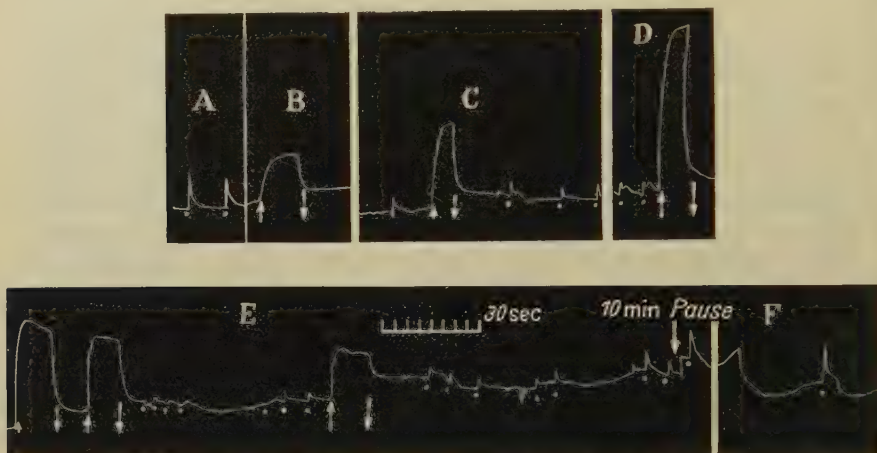


Abb. 1. Katze, 2300 g, weiblich, Nickhautkontraktionen. Bei jedem Punkt 2,5 γ Acetylcholin. Zwischen $\uparrow$ und $\downarrow$ präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,08 mA, 2 Impulse von 10 msec Dauer pro Sekunde. A und B normale RINGER-LOCKE-Lösung mit 0,1 % Glucose; C und D glucosefreie Lösung; E und F statt Glucose 0,1 % Meso-Inositol. Zwischen E und F 10 min Abstand.

bisher nicht wiederholt. Außerdem erscheint es fraglich, ob man sie auf unser Objekt übertragen kann.

Versuche mit eserinhaltiger, glucosereier Durchströmungsflüssigkeit. Da nach unseren Ergebnissen Acetylcholin unter den Bedingungen des Glucosemangels für den Mechanismus der Erregungsübertragung keine bedeutsame Rolle spielt, kann durch Esterasehemmung am Ganglion keine verstärkte Nickhautkontraktion nach gleichbleibender präganglionärer Reizung erwartet werden. Bei unseren Experimenten mit 1:250000 Eserinsulfat enthaltender Durchströmungsflüssigkeit fiel auf, was ECCLES (1934) und auch FELDBERG und VARTIAINEN (1934) schon beschrieben haben, daß die elektrisch ausgelöste Erregung viel weniger gefördert wird als die Acetylcholinwirkung. Fehlte jedoch die Glucose, so wurde der Überträgermechanismus gar nicht gefördert und die Steigerung der Acetylcholinwirkung trat bei gegebener geringer Acetylcholinempfindlichkeit infolge Esterasehemmung unverändert in Erscheinung.

Dieser Versuch, den wir in Abb. 2 und 3 wiedergeben, spricht sehr gegen die ursächliche Bedeutung des Acetylcholins bei der physiologischen Erregungsübertragung.

Versuche Glucose durch Meso-Inosit zu ersetzen. Im Zusammenhang mit Untersuchungen von H. HERKEN am Zentralnervensystem, die hier

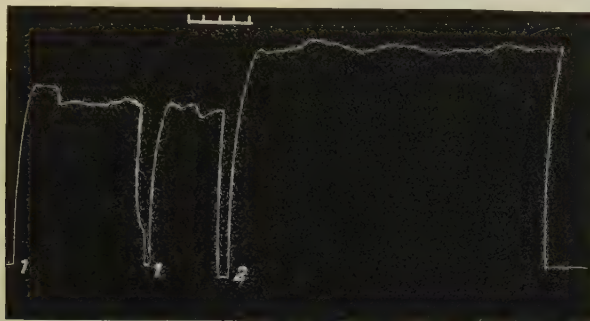


Abb. 2. Nickenhautkontraktionen. Durchströmung des Ganglions mit normaler 0,1% Glucose enthaltender RINGER-LOCKE-Lösung. (1) und (2) präganglionäre elektrische Dauerreizung mit 0,06 mA, 3 Impulsen von 10 msec in 2 sec. (1) vor und (2) 20 min nach Zusatz von 1:250 000 Eserin-sulfat, Zeit: 30 sec.

nicht näher besprochen werden sollen, haben wir Glucose der Durchströmungsflüssigkeit durch die äquivalente Menge Meso-Inosit ersetzt. Das ist ohne größere Funktionsänderungen des Ganglions über eine längere Versuchsdauer möglich. Es wird lediglich der Überleitung elektrisch ausgelöster Erregungen etwas abgeschwächt. Die Acetylcholineffekte bleiben unbeeinflusst. Wir haben nun folgende Versuchsanordnung, wie in Abb. 1 dargestellt ist, durchgeführt: ein Ganglion wurde mit 0,1% Glucose enthaltender Lösung durchströmt und anschließend mit glucosereier Lösung, bis die Erfolge der Acetylcholininjektionen deutlich geringer wurden. Daraufhin wurde 0,1% Inosit zugesetzt und dadurch die Acetylcholinwirkung auf die Ausgangshöhe restituiert. Damit dürfte bewiesen sein, daß Meso-Inosit die Glucose an diesem Objekt und für diese bestimmte Funktion ersetzen kann. Über die biochemischen Umsetzungen kann natürlich nichts ausgesagt werden. Aber es ist unwahrscheinlich, daß Inosit abgebaut wird, denn die dazu notwendigen Fermente sind im Warmblüter bisher nicht gefunden worden. Vielleicht dienen die beiden Verbindungen nur der Phosphataufnahme.

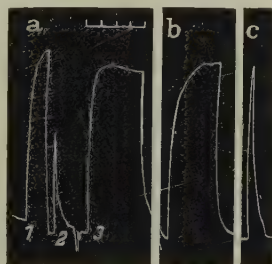


Abb. 3. Nickenhautkontraktionen. a Durchströmung des Ganglions mit glucosereier Lösung. (1) und (3) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,04 mA, 1 Impuls von 10 msec pro Sekunde. (2) 5 γ Acetylcholin. b Dauerreizung wie a, (1) und (3). c 0,25 γ Acetylcholin, Zeit: 30 sec.

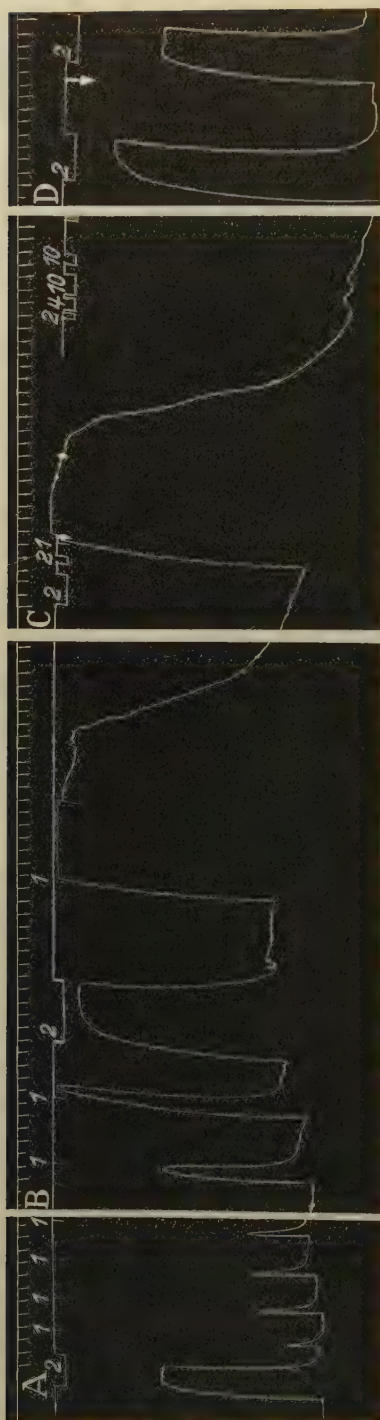


Abb. 4. Katze, 4450 g, männlich, Nickhautkontraktionen. (1) 5 γ Acetylcholin. (2) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,02 mA, 4 Impulsen von 10 msec in 5 sec. (4) wie (2) mit 0,04 mA. (10) wie (2) mit 0,1 mA. Zwischen A und B wurde die übliche Durchströmungsflüssigkeit gegen eine Ca-Ionenfreie Lösung ausgetauscht. Zwischen C und D Auswechseln gegen normale RINGER-LOCKE-Lösung. ($\downarrow$) 5 min Pause, Zeit: 30 sec.

Wir wissen nämlich, daß der Citronensäurezyklus in einem System, in dem nicht genügend Phosphatacceptoren vorhanden sind, zum Stillstand kommt. Versuche mit dem 6fach phosphorylierten Inositderivat Phytin könnten diese Vermutung stützen. Phytin hemmt in äquimolaren Konzentrationen die Acetylcholinwirkung vollständig und irreversibel. Derartige Experimente mußten mit calciumfreier Salzlösung durchgeführt werden, weil Phytin in Gegenwart von Ca-Ionen bei pH 7,4 nicht ausreichend löslich ist. Deshalb war es notwendig, die durch Ca-Ionenmangel hervorgerufenen Funktionsänderungen des Ganglions zu studieren.

Versuche mit Ca-ionenfreier Durchströmungsflüssigkeit. Beim Fehlen oder starker Verminderung der Ca-Ionen in der verwendeten Salzlösung kontrahiert sich die Nickhaut wenige Minuten nach beginnender Durchströmung maximal und erschlafft einige Minuten später sehr langsam. Diese Kontrakturwirkung ist regelmäßig vorhanden. Danach kommt es zu einer völligen Hemmung des elektrischen Reizerfolges. Die Acetylcholinwirkung wird gleichzeitig so erheblich gesteigert, daß als Erklärung die Hemmung der Acetylcholinesterase durch Calcium-Ionenmangel kaum in Frage kommt. Die Nickhautkontraktionen nach kleinen Acetylcholininjektionen erscheinen wie

eine Wiederholung der am Anfang der Calcium-Ionenfreien Durchströmung aufgetretenen Spontanerregung. Die Verhältnisse restaurieren sich sehr rasch nach Zusatz von Ca-Ionen. Schon wenige Minuten später ist die normale Übertragung elektrisch ausgelöster Erregungen wieder hergestellt und die Acetylcholinwirkung auf die Ausgangshöhe zurückgekehrt. Ein Versuch ist in Abb. 4 dargestellt.

Eine Parallele zu der Erregungssteigerung unter Calcium-Ionenmangel findet sich bei Reizschwellenbestimmungen an isolierten RANVIERSchen Schnürringen wie sie von H. LÜTTGAU durchgeführt wurden.

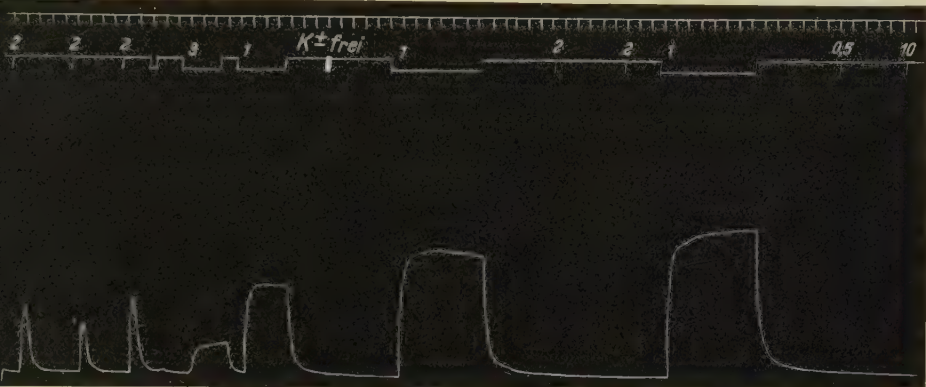


Abb. 5. Katze, 2000 g, weiblich, Nickhautkontraktionen. (1) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,08 mA, 3 Impulsen von 10 msec in 2 sec. (3) wie (1) mit 0,06 mA. (2) 2 γ Acetylcholin. (0,5) 0,5 γ Acetylcholin. (10) 10 γ Acetylcholin; ab „K⁺-frei“ enthält die Perfusionslösung keine Kalium-Ionen, Zeit 30 sec.

Allerdings benutzte er elektrische Reize und nicht chemische, wie wir. Es geht daraus aber auch deutlich der Unterschied zwischen Schnürring und Synapse hervor, denn die elektrische Erregbarkeit des Schnürringes wird durch Calcium-Ionenmangel erhöht, die Funktion der Synapse vermindert, und nur die chemische Erregbarkeit des peripheren Neurons der Synapse erhöht.

Die ursächliche Bedeutung der Kalium- und Natrium-Ionen für die Nervenfunktionen ist gerade in den letzten Jahren durch HODGIN, HUXLEY, KATZ und STAEMPLI (1952) erneut bewiesen worden. Am oberen Halsganglion wurden von BROWN und FELDBERG (1936) Versuche gemacht, die gezeigt haben, daß Kalium-Ionen in relativ hohen Dosen die Übertragung elektrisch ausgelöster Erregungen lähmen, in kleineren Dosen jedoch erregend wirken. M. VOGT hat 1936 eine Abnahme der K-Ionenkonzentration des Ganglions nach elektrischer präganglionärer Reizung festgestellt.

Wir haben die Funktionsänderungen während der *Durchströmung mit kaliumfreier Salzlösung* beobachtet. Manchmal wurde die Acetyl-

cholinempfindlichkeit schon nach wenigen Minuten geringer, wie auf der in Abb. 5 dargestellten Kurve, mitunter dauerte es aber auch 30—40 min. Gleichzeitig waren die Erfolge der elektrischen präganglionären Dauerreizung unverändert und verstärkt, jedoch nie vermindert wie die Acetylcholinereizung. Auch hier begegnet uns somit eine Bedingung, unter der Acetylcholin nicht der Überträgerstoff sein kann, der bei der Erregungsübertragung in sympathischen Ganglien die Erregung des peripheren Neurons ursächlich bewirkt.

Versuche mit natriumfreier Durchströmungsflüssigkeit. Für diese Experimente wurde die Isotonie der Lösung statt mit NaCl mit Glucose

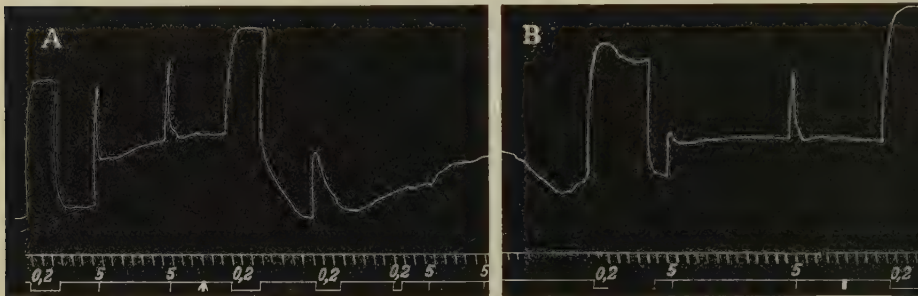


Abb. 6. Katze, 2850 g, weiblich, Nickhautkontraktionen. (0,2) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,2 mA, 3 Impulsen von je 10 msec in 2 sec. (5) 5 γ Acetylcholin; ab (↑) Durchströmung mit Na-Ionenfreier Lösung. Zwischen A und B Auswechseln der Na-Ionenfreien Lösung gegen normale RINGER-LOCKE-Lösung, Zeit: 30 sec.

hergestellt und Natriumbicarbonat durch Kaliumbicarbonat ersetzt. Alle anderen Bestandteile waren in der üblichen Konzentration vorhanden. Nach wenigen Minuten waren die Ganglien völlig unerregbar gegenüber Acetylcholin und elektrischen Reizen. Die Erregbarkeit war sofort wieder hergestellt, wenn mit der üblichen Salzlösung durchströmt wurde (Abb. 6).

Diskussion.

An unseren Ergebnissen ist bemerkenswert, daß sie Zweifel an der vollständigen Richtigkeit der Acetylcholintheorie auslösen. Bisher mußte man parallel mit einer Verminderung der Acetylcholinempfindlichkeit des in der Synapse beginnenden Neurons auch eine Verminderung der zu übertragenden Erregung erwarten. Diese Forderung hat sich in den beschriebenen Experimenten nicht immer erfüllt. Folglich kann die Funktion sympathischer Ganglien nicht direkt vom Acetylcholinstoffwechsel abhängig sein.

Die für jede der beiden geprüften Erregungsformen erforderlichen Bestandteile der Durchströmungsflüssigkeit sind klar voneinander zu trennen. Die Acetylcholinereizung benötigt Glucose oder Inosit, K-Ionen

und Na-Ionen. Die Überleitung elektrischer Erregungen funktioniert nur in Gegenwart von Natrium- und Calcium-Ionen, jedoch können Kalium-Ionen und Glucose hierbei fehlen. Besonders interessant erscheint die Rolle der Calcium-Ionen, deren Mangel einerseits die Überträgerfunktion aufhebt, gleichzeitig aber die Acetylcholinwirkung zu ungewöhnlich hohen und langdauernden Kontraktionen steigert. Versuche an den isolierten Fermentsystemen der Acetylcholinsynthese und -hydrolyse können allenfalls die Steigerung der Acetylcholinwirkung erklären, weil Calcium-Ionen für die Funktion der Esterasen notwendig sind. Ihr Fehlen ist also gleichbedeutend mit einer Esterasehemmung. Andererseits vermindern Ca-Ionen die Acetylcholinbildung; ohne Calcium-Ionen wird also mehr synthetisiert und doch ist die Überträgerfunktion gelähmt.

Ähnliche Unstimmigkeiten zwischen unseren Versuchen und den Erfordernissen des Acetylcholinstoffwechsels findet man auch bei den anderen untersuchten Komponenten. Glucose und Kalium-Ionen sind für die Acetylcholinsynthese notwendig. Ihr Fehlen erzeugt jedoch keine Veränderung der Überträgerfunktion. Das Resultat dieser Gegenüberstellungen bestärkt uns in der Annahme, daß Acetylcholin nicht ursächlich an der Überträgerfunktion sympathischer Ganglien beteiligt ist.

Zusammenfassung.

1. Glucose- oder Kalium-Ionenmangel der Perfusionslösung isoliert durchströmter oberer Halsganglien führt zur Verminderung der Acetylcholinempfindlichkeit. Dadurch wird die Überleitung präganglionär elektrisch ausgelöster Erregungen jedoch nicht beeinträchtigt. Deshalb werden erneut Zweifel an der vollständigen Richtigkeit der Acetylcholintheorie geäußert.

2. Für die Acetylcholinerregung ist es gleichgültig, ob die Perfusionslösung Glucose oder an deren Stelle Meso-Inosit enthält. Phytin verhindert die Acetylcholinwirkung vollständig und schneller als Glucosemangel.

3. Calcium-Ionenmangel ruft eine starke Spontanerregung hervor. Nach deren Abklingen ist die Überleitungsfunktion gelähmt und die erregende Acetylcholinwirkung erheblich verstärkt und verlängert.

4. Beim Fehlen von Natrium-Ionen werden die beiden geprüften Funktionen des Ganglions nach kurzer Zeit gelähmt.

Literatur.

BROWN, G. L., and W. FELDBERG: The action of potassium on the superior cervical ganglion of the cat. *J. of Physiol.* **86**, 290 (1936). — ECCLES, J. C.: *J. of Physiol.* **81**, 8 P (1934); zit. bei FELDBERG und VARTIAINEN. — FELDBERG, W., and A. VARTIAINEN: Further observations on the Physiology and Pharmacology

of a sympathetic ganglion. *J. of Physiol.* **83**, 103 (1934). — FELDBERG, W.: The role of acetylcholine in the centralnervoussystem. *Brit. Med. Bull.* **6**, 312 (1950). — HERKEN, H.: Vortrag im wissenschaftl. Kolloquium der Max-Planck-Ges. Göttingen am 24. I. 1953. — KAHLSON, G., and F. C. MCINTOSH: Acetylcholinesynthesis in a sympathetic ganglion. *J. of Physiol.* **96**, 277 (1939). — KEWITZ, H., u. H. REINERT: Prüfung pharmakologischer Wirkungen am oberen sympathischen Halsganglion bei verschiedenen Erregungszuständen. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **215**, 547 (1952). — LÜTTGAU, H.: Die Abhängigkeit der Reizschwelle (Rheobase) isolierter RANVIERScher Schnürringe von der Ionenkonzentration. *Z. Naturforschg.* **86**, 263 (1953). — LAPORTE, Y., and R. LORENTE DE NÓ: Dual mechanism of synaptic transmission trough a sympathetic ganglion. *Suppl. J. of Physiol.* **35**, 107 (1950). — STAEMPFLI, R.: Neue Theorien in der Nervenleitung. 3. Kolloqu. der Ges. f. Physiol. Chemie, 26. u. 27. April 1952 in Mosbach/Baden. S. 108 dort weitere Literatur. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952. — VOGT, M.: Potassium changes in the stimulated superior cervical ganglion. *J. of Physiol.* **86**, 258 (1936).

Dr. HELMUT KEWITZ, Berlin-Dahlem,
Pharmakolog. Institut der Freien Universität, Thielallee 69—73.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Zur Bedeutung des Acetylcholins als Überträgersubstanz sympathischer Ganglien.

Von
H. KEWITZ.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. September 1953.)

Pharmaka mit parasymphaticolytischer Wirkung, deren älteste Vertreter Atropin und Scopolamin sind, sollen vorwiegend die an den Vagusendigungen lokalisierte muscarinartige Wirkung des Acetylcholins aufheben. Die Stellen, an denen Acetylcholin nicotinartig wirkt, z. B. die vegetativen Ganglien und die Nervenendplatten, sollen erst durch hohe, therapeutisch nicht zu erreichende Konzentrationen gelähmt werden. Als experimentelle Bestätigung dieser Ansicht galt für das isoliert durchströmte obere Halsganglion der Katze längere Zeit eine kurze Angabe von FELDBERG und VARTIAINEN, wonach erst über 100 γ lähmen und kleinere Dosen wirkungslos sind. Vor einigen Jahren haben jedoch KONZETT und ROTHLIN (1949) an dem gleichen Objekt gezeigt, daß schon sehr kleine Dosen von 0,1—5 γ Atropin die erregende Acetylcholinwirkung für 10—20 min verhindern. Atropin ist folglich nicht nur ein Antagonist der muscarinartigen-, sondern an diesem Objekt auch der nicotinartigen Acetylcholinwirkung. Und doch ist das Alkaloid in therapeutischen Dosen weder ein Ganglienblocker noch ein neuromuskulär lähmendes Pharmakon. Die Erklärung dafür könnte sehr einfachen Untersuchungen von RIESSER aus dem Jahre 1921 entnommen werden. Er beschreibt, daß der isolierte Froschrectus in Anwesenheit von Atropin oder Novocain zwar durch Acetylcholin nicht erregbar ist, aber durch indirekte Reizung zur Kontraktion gebracht werden kann.

In Verbindung mit den Ergebnissen vorhergehender Arbeiten (KEWITZ u. REINERT [1954 u. 1954a]) schien es möglich, daß auch am sympathischen Ganglion die Acetylcholinerregung durch kleine Dosen Atropin blockiert (KONZETT u. ROTHLIN) und die elektrisch ausgelöste Erregung erst durch viel höhere Dosen gehemmt wird (FELDBERG u. VARTIAINEN).

Die Versuche wurden am oberen, isoliert durchströmten Halsganglion der Katze mit der an anderer Stelle (KEWITZ u. REINERT 1952) beschriebenen Methodik durchgeführt.

haben aber außerdem lokalanaesthetische und anticholinergische Eigenschaften (WIEDLING). Sie werden neuerdings zur Verstärkung und Verlängerung der Narkose und bei der Hibernation appliziert.

Von der Antihistaminwirkung ist eine Beeinflussung der Funktion sympathischer Ganglien nicht zu erwarten, weil Histamin keine spezifische Wirkung auf cholinergische Synapsen ausübt. Jedoch bewirken, wie gezeigt werden konnte, anticholinergische und lokalanaesthetische

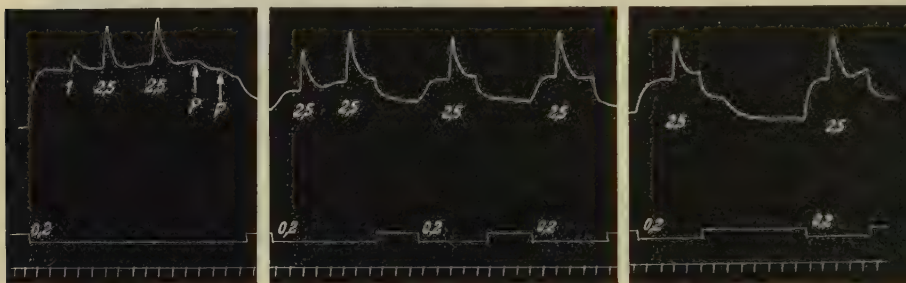


Abb. 6. Katze, 2200 g, weiblich, Nickhautkontraktionen. (0,2) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,2 mA, 3 Impulsen von 15 msec pro Sekunde. Die Zahlen geben die Acetylcholinosis in γ an. (P) 5 γ Pantocain, Zeit: 30 sec.

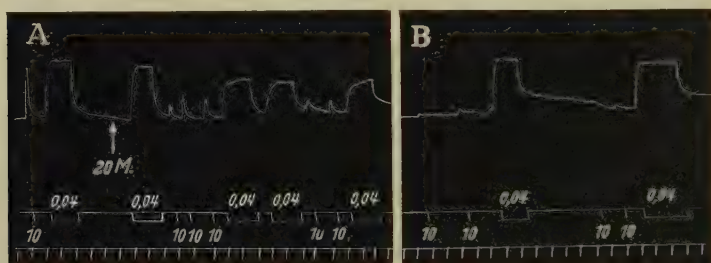


Abb. 7. Katze, 2700 g, weiblich, Nickhautkontraktionen. (10) 10 γ Acetylcholin. (0,04) präganglionäre elektrische Sympathicusdauerreizung mit 0,04 mA, 1 Impuls von 10 msec Dauer pro Sekunde. ($\uparrow$ 20 M) 20 γ Megaphen. Zwischen A und B 5 min Abstand, Zeit: 30 sec.

Stoffe ganz verschiedene Funktionsänderungen. Tatsächlich ist es möglich, diese beiden Wirkungskomponenten am Ganglion zu differenzieren. In Abb. 7 ist beispielsweise zu sehen, daß kurz nach Zugabe von Megaphen die Hemmung der Acetylcholineregung noch nicht voll ausgeprägt, aber auch eine Verminderung der Erregungsübertragung eingetreten ist. Während die Acetylcholinhemmung weiter zunimmt, strebt die durch elektrische Reize ausgelöste Nickhautkontraktion bereits der Ausgangshöhe zu. Die Acetylcholineregung bleibt gewöhnlich noch längere Zeit vermindert. Die eventuell als lokalanaesthetisch zu deutende Wirkungskomponente ist also kürzer und schwächer als die anticholinergische und klar von dieser zu trennen.

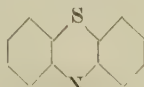
Diskussion.

Die geschilderten Versuche vermitteln die wesentlich neue Erkenntnis, daß die Antiacetylcholinwirkung der sogenannten Parasympathicolytica nicht auf die Vagusendigungen beschränkt ist, sondern daß sie auch die erregende Acetylcholinwirkung an den sympathischen Ganglien hemmen. Dadurch wird die physiologische Aufgabe dieser Strukturen, nämlich die Erregungsübertragung, nicht beeinträchtigt. Folglich ist anzunehmen, daß die physiologische Funktion auch ohne die ursächliche Mitwirkung von Acetylcholin möglich ist. Andere bemerkenswerte Anhaltspunkte dafür sind in zwei vorangehenden Veröffentlichungen bereits mitgeteilt.

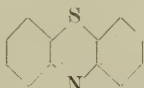
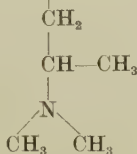
In zukünftigen Untersuchungen wird festzustellen sein, ob eine andere Substanz als Überträgerstoff in Frage kommt. Zum Beispiel ist bisher noch ungeklärt, welcher Stoff in KIBJAKOWS ersten Versuchen während elektrischer, präganglionärer Reizung im isoliert durchströmten Ganglion freigesetzt wurde und ein zweites Ganglion erregen

konnte. Acetylcholin ist es sicher nicht gewesen, denn KIBJAKOW verwendete kein Esterasegift, so daß man mit vollständiger Hydrolyse des etwa vorhandenen Acetylcholin rechnen muß. Vor allem ist zu bedenken, daß die Versuche 15 min dauerten und die ausfließende Flüssigkeit nach KIBJAKOWS Angaben meistens etwas Blut enthielt, also reichlich ester-spaltende Fermente vorhanden waren.

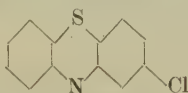
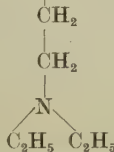
Sehr wichtig erscheint mir die Untersuchung der von GADDUM und EULER aus Hirn und Darm extrahierten Substanz P am isolierten Ganglion. VOGT, der seinen



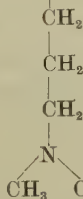
N-(2'-dimethylamino-2'-methyl-äthyl)phenothiazin
Atosil, Phenergan



N-(2'-diäthyl-amino-äthyl)-phenothiazin
Latibon, Diparcol



N-(3'-dimethylamino)-Propyl-3-chlorphenothiazin
Megaphen



Darmstoff für identisch hält mit Substanz P, hat nämlich zeigen können, daß dieser Stoff bei Vagusreizung frei wird und seine Wirkung durch Atropin nicht hemmbar ist. Er hat jedoch nicht festgestellt, ob diese Substanz an den Vagusendigungen oder den Ganglien entsteht. Jedenfalls ist eine physiologische Bedeutung dieses Stoffes an bestimmten Abschnitten des vegetativen Nervensystems durchaus möglich. Nach EULER enthalten 200 mg frischen Darmgewebes eine Menge, die in einem 30 cm³-Bad eine deutliche und langdauernde darmerregende Wirkung ausübt. Die Substanz ist also sehr wirksam und scheint außerdem eine blutdrucksteigernde Komponente zu besitzen, die GADDUM und EULER bei Versuchen zur Reinigung mit REINECKE-Säure entdeckten.

Vielleicht ist auch ein Befund von NACHMANSOHN, HESTRIN und VORIPATEFF erwähnenswert. Sie verfolgten die Acetylcholin synthese in Ansätzen, die Aceton-trockenpulver aus Kaninchenhirn enthielten. Dabei fiel auf, daß nur ein Drittel der synthetisierten und im biologischen Test wie Acetylcholin erregend wirkenden Substanz sich auch chemisch mit Acetylcholin identisch erwies. Über die Natur des Stoffes, der die restlichen zwei Drittel der biologischen Wirksamkeit ausmachte, ist bisher nichts veröffentlicht worden.

Ergänzend möchte ich die Ergebnisse von BROWN, MCLENNAN und PASCOE (1952 u. 1952a) anführen, die in gewisser Hinsicht unsere Ansichten stützen. Diese Autoren haben die postganglionären Fasern durchtrennt und 3 Wochen später eine vollständige Lähmung der Überleitungsfunktion festgestellt. Der Acetylcholinstoffwechsel aber war zu dieser Zeit unverändert. Während präganglionärer Reizung wurde genau so viel Acetylcholin freigesetzt wie in einem normalen Ganglion. Unter derartigen Bedingungen liegt also eine Funktionsstörung vor, die unabhängig ist von der Synthese, Freisetzung und Hydrolyse des Acetylcholins.

Die vorliegenden Untersuchungen sind geeignet, die gut bekannten Differenzen in der pharmakologischen Beeinflussung zwischen sympathischen Ganglien und den Nervenendplatten verständlich zu machen. Sie zeigen, daß die Acetylcholintheorie für die sympathischen Ganglien höchstens beschränkte Gültigkeit hat.

Zusammenfassung.

1. Scopolamin, Atropin und Trasentin H hemmen nicht nur die muscarinartige Acetylcholinwirkung an den Vagusendigungen, sondern auch die nicotinartige in sympathischen Ganglien. Die Überträgerfunktion der Ganglien wird durch diese Stoffe jedoch nicht gestört. Daraus kann gefolgert werden, daß Acetylcholin für diese Funktion nicht unbedingt notwendig ist.

2. Novocain wirkt grundsätzlich so, wie die Parasympathicolytica.

3. Umgekehrt hemmen die Oberflächenanaesthetica Pantocain und Novocainamid bevorzugt die Überträgerfunktion und nicht, oder weniger die Acetylcholinerregung.

4. Die Phenothiazinderivate Atosil (Phenergan), Latibon (Diparcol) und Megaphen weisen analog ihrer oberflächenanaesthetischen und ihrer acetylcholinwidrigen Wirkungskomponenten beide Eigenschaften auf, die gut voneinander zu trennen sind. Die Hemmung der Acetylcholinwirkung ist stärker und hält länger an als die Störung der Überträgerfunktion.

Literatur.

BROWN, G. L., H. McLENNAN and J. E. PASCOE: Failure of ganglionic transmission after postganglionic nerve section. *J. of Physiol.* **117**, 28 P (1952).
 Acetylcholine metabolism of axotomized sympathetic ganglia. *J. of Physiol.* **118**, Proceed. of the physiology society 10—11. sept (1952a). — EULER, U. S. v.: Untersuchungen über Substanz P, die atropinfeste, darmerregende und gefäßerweiternde Substanz aus Darm und Hirn. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **181**, 181 (1936). — FELDBERG, W., and A. VARTIAINEN: Further observations on the physiology and pharmacology of a sympathetic ganglion. *J. of Physiol.* **83**, 103 (1934). — KEWITZ, H., u. H. REINERT: Prüfung pharmakologischer Wirkungen am oberen sympathischen Halsganglion bei verschiedenen Erregungszuständen. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **215**, 547 (1952). — Wirkung verschiedener Sympathicomimetika auf die chemisch u. elektr. ausgelöste Erregung des oberen Halsganglions (im Druck). — Differenzierung zwischen der Acetylcholin-erregung und der Überträgerfunktion sympathischer Ganglien mit Hilfe verschieden zusammengesetzter Durchströmungsflüssigkeiten. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* (im Druck). — KIBJAKOW, A. M.: Über humorale Übertragung der Erregung von einem Neuron auf das andere. *Pflügers Arch.* **232**, 442 (1933). — KONZETT, H., u. E. ROTILIN: Beeinflussung der nicotinartigen Wirkung von Acetylcholin durch Atropin. *Helvet. physiol. Acta* **7**, C 46 (1949). — NACHMANSOHN, D., S. HESTRIN and H. VORIPAIIEFF: Enzymatic synthesis of the compound with acetylcholin-like biological activity. *J. of Biol. Chem.* **180**, 875 (1949). — RIESSER, O.: Über die durch Acetylcholin bewirkte Erregungskontraktur und ihre antagonistische Beeinflussung durch Atropin, Novocain und Curare. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **91**, 342 (1921). — VOGT, W.: Über die stoffliche Grundlage der Darmbewegungen und des Vagusreizes am Darm. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **206**, 1 (1949).

Dr. HELMUT KEWITZ,

Berlin-Dahlem, Pharmacolog. Institut der Freien Universität, Thielallee 69—73.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. EICHHOLTZ).

Untersuchungen am ermüdeten und gelähmten oberen Cervicalganglion.

Die Wirkung von Nicotin, Anabasin, Cytisin und Lobelin.

Von

EBERHARD SCHMID und HANS-GEORG KNAUFF.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Dezember 1953.)

In der Hoffnung auf weitere Einblicke in den Mechanismus der ganglienerregenden Wirkung von Nicotin und Cytisin untersuchten wir am oberen Cervicalganglion der Katze das Wechselspiel zwischen diesen erregenden und verschiedenen lähmenden Pharmaka. Mit demselben Ziel sollten außerdem die Schwellendosen von Nicotin, Cytisin, Anabasin und Lobelin am normalen und ermüdeten Ganglion bestimmt werden. Unsere Versuche folgen hier früheren Arbeiten von EICHHOLTZ u. ROESCH sowie E. SANN über die Wirkung von Nicotin am Nebennierenmark.

45 Katzen im Gewicht von 1,5—4 kg wurden in Äthernarkose nach der Methode von BARGER u. DALE dekapitiert. Rechter Halsvagus und -Sympathicus wurden durchtrennt, der periphere Sympathicusstumpf durch Kondensatorentladungen mit einer Frequenz von 200—600/min präganglionär gereizt. Der Kontraktionszustand beider Nickhäute wurde über Stirnhebel registriert, die linke Seite diente zur Kontrolle. Ferner wurden der Blutdruck aus der linken Art. femoralis und die Milzgröße (nach RIECHERT u. SCHMIEDER) aufgezeichnet. Das verwendete Nicotin-tartrat war nach FORST gereinigt. Die Dosenangaben sind zum Vergleich mit Cytisin und Anabasin auf Nicotinbase umgerechnet.

Ergebnisse.

Die erregende Wirkung von Nicotin und verwandten Alkaloiden am ermüdeten Ganglion.

Am nichtermüdeten, mit supramaximalen Stromstärken präganglionär gereizten oberen Cervicalganglion waren niedrige Nicotindosen (10 bis 100 γ /kg intravenös) nicht deutlich wirksam. Wir verminderten daher die Erregbarkeit des Ganglions durch ermüdende Dauerreizung und versuchten dann, diese Ermüdung durch Schwellendosen von Nicotin, Anabasin, Cytisin und Lobelin zu durchbrechen. Diese Alkaloide wurden injiziert, wenn die Nickhaut-Kontraktion bei konstanter Reizung nach $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$ Std um etwa 50% abgefallen war. 10—20 γ Nicotin/kg als kleinste

wirksame Dosis ließen nun die Kontraktionshöhe der Nickhaut wieder um etwa 50% ansteigen (12 Versuche, Abb. 1). In Tab. 1 sind zum Vergleich weitere nervöse Angriffspunkte von Nicotin aufgeführt. Es geht daraus hervor, daß die Nicotinschwellendosis des ermüdeten Cervicalganglions zu den niedrigsten gehört.

Dieser Nicotineffekt war erst nach einer kurzen Latenzzeit sichtbar und erreichte sein Maximum nach etwa 5—15 min. Auch am Blutdruck

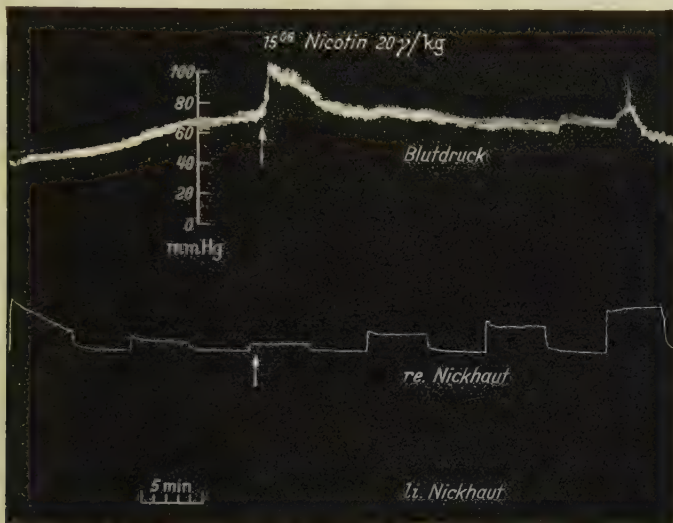


Abb. 1. Spinalkatze, 3,7 kg Gewicht, mit durchtrenntem Halsvagus und -sympathicus. Künstliche Beatmung mit Sauerstoff unter Zusatz von 10% CO₂. Nach 5 min langer ermüdender präganglionärer Reizung (180/min) = 1, wiederholt nach Intervall von 5 min = 2, führt Nicotin in einer Dosierung von 20 γ/kg zu einer allmählichen Verbesserung in der Tätigkeit des Ganglions cervicale superius (3, 4, 5, 6).

zeigte sich ein kurzer Anstieg, der aber bereits abgeklungen war, bevor die Nickhaut-Kontraktion ihr Maximum erreicht hatte. Kontraktionen der Milz und der Kontrollnickhaut wurden bei solchen kleinen Nicotindosen nicht beobachtet. Zur Erzielung ähnlicher Effekte waren 40 bis 180 γ *Anabasin*/kg erforderlich (4 Versuche). Mit Schwellendosen von 2—10 γ *Cytisin*/kg war ein Wiederanstieg der Nickhaut-Kontraktion um etwa 30% zu erzielen (5 Versuche). Die Cytisinwirkung setzte unmittelbar nach der Injektion ein und war schon nach 2—5 min maximal. Während die Kontrollnickhaut nicht ansprach, trat, offenbar als Zeichen einer Adrenalinausschüttung, eine deutliche Blutdrucksteigerung und Milzkontraktion auf. Um zu klären, ob auch die verstärkte Kontraktion der ermüdeten Nickhaut in ähnlicher Weise sekundär bedingt war, injizierten wir zur Kontrolle äquipressorische Adrenalinmengen (1—2 γ/kg

Tabelle 1. Nervöse Angriffspunkte von Nicotin.

Dosis ¹	Versuchsbedingungen	Angriffspunkt	Erreg. + Lähmung —	Autor
ab 2 γ /kg	Katzen, Chloralose, bzw. decerebriert ²	Patellarsehnenreflex	— ³	SCHWEITZER u. WRIGHT
ab 10 γ /kg	Katzen, Urethan-Chloral., bzw. decerebriert ²		—	TAUGNER u. CULP
ab 25 γ /kg	Katzen, decerebriert ²		—	HEYMANS, BOUCKAERT u. DAUTREBANDE
etwa 10 γ /kg	Hunde, Chloralose, bzw. ohne Narkose	Flexor- u. Extensorreflex	+	WRIGHT
10—20 γ /kg	Katzen, Chloral. bzw. decerebriert ²	Atmung (Chemoreceptoren) ³	+	
10—20 γ /kg	Katzen, dekapit. ² Luftatmung ⁴	ermüdet. Cervicalganglion	+	VAN SLYKE u. LARSON
20—40 γ /kg	Hunde, Dial-Urethan	Blutdrucksteigerung bei intaktem NNmark	+	SANN
20—50 γ /kg	Katzen, dekapit., Urethan-Chloralose 3,6 bis 10% CO ₂ -Atmung		+	ETCHHOLTZ u. ROESCH
60—150 γ /kg	Katzen, dekapit., Urethan-Chloralose, 8 bis 12% CO ₂ -Atmung		+	STRAUB u. AMANN
100 γ /kg	Katzen, Chloralose	Blutdrucksteigerung vor und nach Adrenalektomie	+	SANN
100 γ /kg	Katzen, dekapit., Urethan-Chloralose mit u. ohne CO ₂ beatmet		+	KUSCHINSKY u. HOTOVY
250 γ /kg s. c.	Ratten, Zitterkäfig		+	VAN SLYKE u. LARSON
400 γ /kg	Hunde, Dial-Urethan	Motorik	—	STRAUB u. AMANN
1,14—5,08 mg/kg (Dauerinfusion)	Katzen, Chloralose	Depressorreflex	—	
0,25—0,5 mg/kg	Säugetiere	schwere Lähmungen	—	
20—100 mg	Hunde, Katzen	tödliche Dosen	—	FLURY u. ZERNIK

¹ Dosenangaben (intravenöse Zufuhr) für Nicotinbase. — ² Operation in Äthernarkose; keine Narkose während des Versuchs. — ³ Zur Deutung der „Lähmung“ vgl. TAUGNER u. CULP. — ⁴ Die Nicotinwirkung am ermittelten Cervicalganglion wurde durch Beatmung mit 5—20% CO₂ nicht verstärkt. — ⁵ Anmerkung bei der Korrektur. Am *nichtnarkotisierten Hund* (Versuchsanordnung nach SCHROEDER) liegt die Schwellendosis für die Atmungsregung bei 1—2 γ Nicotin/kg i. v. (unveröffentlichte Versuche von TAUGNER, SCHMID u. WAGENMANN). Da die dabei beobachteten Kreislauf-Reaktionen sekundär-reflektorischer Natur sind (vergl. K. MATTHES, Kreislauf-Untersuchungen am Menschen mit fortlaufend registrierenden Methoden, Thieme-Verlag, Stuttgart 1951), scheint dies der *erste Angriffspunkt* physiologischer Nicotindosen zu sein.

intravenös). Diese waren jedoch praktisch unwirksam. *Lobelin* (100 bis 500 γ /kg) war ohne deutliche Wirkung auf das ermüdete Ganglion (3 Katzen).

Nicotin und Cytisin als Antagonisten ganglienlähmender Stoffe.

In dieser Versuchsserie wurde der linke Halssympathicus in einzelnen Reizperioden von 5 min supramaximal gereizt, dann folgten jeweils 5 min Pause. Als Ganglienblocker verwendeten wir Tetraäthylammoniumbromid (0,5—5 mg/kg), Hexamethoniumbromid (0,05—1 mg/kg), Pendiomid* (0,5—3 mg/kg) und Arfonad* (Roche 2—2222, Dosis 5—20 γ /kg). Unsere Ergebnisse stimmten hinsichtlich Wirkungsdauer und -intensität dieser Stoffe mit den Angaben von ACHESON u. MOE, PATON u. ZAIMIS, BEIN u. MEIER, RANDALL u. Mitarb. überein. Nicotin und Cytisin (10—100 γ /kg bzw. 5—10 γ /kg) wurden vor oder, je nach Wirkungsdauer der verwendeten Ganglienblocker, zu verschiedenen Zeitpunkten nach deren Zufuhr injiziert. Die Ganglienlähmung ließ sich durch Nicotin und Cytisin nicht beeinflussen.

15—40 mg Parpanit/kg und 150 mg My 301/kg** (8 Versuche) bewirkten bei fraktionierter Injektion eine wechselnde (im Mittel 50% ige) Lähmung des Ganglions, die 20—40 min anhielt. Die Chininlähmung (6 Versuche, 20 mg/kg) setzte langsamer ein (Maximum nach 20 min) und war an 2 Katzen vollständig. Atropin, das nach MARAZZI am Kaninchen und nach CAHEN u. TVEDE an der Katze eine ziemlich kurze Ganglienlähmung bewirkt, setzte in unseren Versuchen die Kontraktionshöhe der gereizten Nickhaut etwa 40 min lang um 60% herab (3 Katzen, 2 mg/kg). Dagegen wirkten Banthin und Buscopan** (je 2 mg/kg) nur vorübergehend (etwa 5—10 min). Bei fraktionierter Injektion von Cocain (5 Ver-

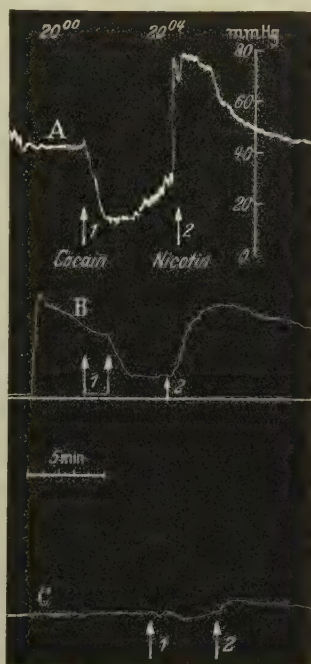


Abb. 2. Spinalkatze, 2,6 kg, re. Halsvagus und -sympathicus durchtrennt, präganglionäre Dauerreiz. (600/min). Bei 1 $\uparrow$ 5 mg Cocain/kg, bei 2 $\uparrow$ 10 γ Nicotin/kg. A Blutdruck, B re. Nickhaut, C li. Nickhaut.

* Pendiomid: N',N',N',N'-3-pentamethyl-N',N'-diäthyl-3-azapentyl(1,5)-diammoniumdibromid. Arfonad: d-3-4(1,3-dibenzyl-2-ketoimidazolido)-1-2-trimethylthiophanium-d-Kampfersulfonat.

** Parpanit: l-Phenyl-cyclopentan-l-carbonsäurediäthylaminoäthylester-hydrochlorid. My 301: Gujacol-Glycerinäther. Banthin: Xanthencarbonsäure-diäthylamino-äthyläther. Buscopan: Hyoscin-N-butylbromid.

suche) führten 2 mg/kg zunächst zur tonischen Kontraktion beider Nickenhäute und zur Verstärkung der Hubhöhe bei elektrischer Reizung; auf weitere 15 mg/kg fielen beide Nickenhäute allmählich ab.

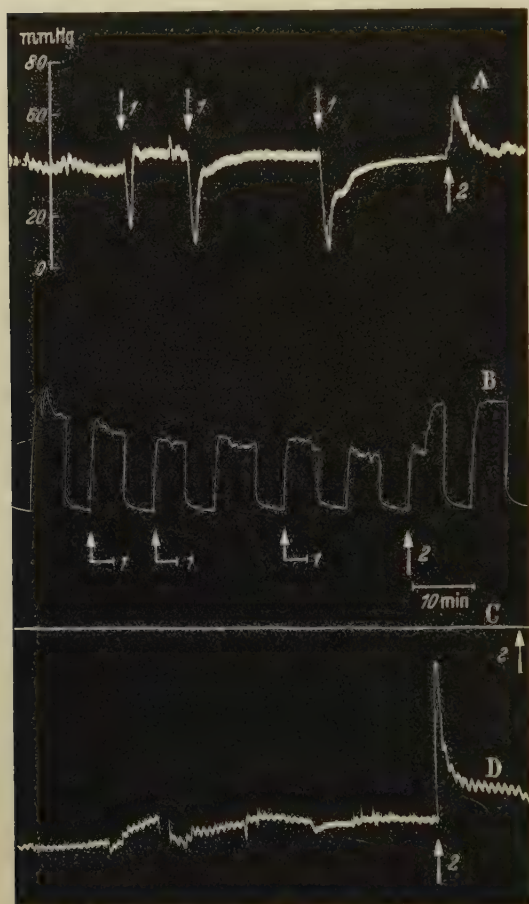


Abb. 3. Spinalkatze, 3,0 kg, re. Halsvagus und -sympathicus durchtrennt, präganglionäre Reizung (300/min), je 5 min. Bei 1 $\uparrow$ je 5 mg Parpanit/kg, bei 2 $\uparrow$ 5 γ Cytisin/kg. A Blutdruck, B re. Nickenhaut, C li. Nickenhaut, D Milz.

Die Cocain-Lähmung sprach recht gut auf Nicotin an, die Nickenhaut-Kontraktion erreichte manchmal für kurze Zeit wieder ihre frühere Höhe (Abb. 2). Auch die durch die Interneuronengifte Parpanit und My 301 bewirkte Ganglienlähmung ließ sich durch Nicotin und Cytisin antagonistisch beeinflussen (Abb. 3). Da Cytisin schneller wirkt als Nicotin, war der Cytisineffekt bei diesen Stoffen eindrucksvoller. Gegenüber Chinin sahen wir nur einen geringen Nicotin- bzw. Cytisin-Antagonismus. Die ganglienlähmende Wirkung von Atropin, Buscopan und Banthin konnte durch Nicotin nicht abgeschwächt werden.

Diskussion der Ergebnisse.

Die Abnahme der Nickenhaut-Kontraktion bei präganglionärer Dauer-

reizung ist nach BROWN u. FELDBERG auf eine Verminderung der Acetylcholin-Freisetzung zurückzuführen. Kleine intravenöse Dosen von Nicotin, Cytisin und Anabasin können nach den vorliegenden Untersuchungen diese Ermüdung durchbrechen. Da die Kontroll-Nickenhaut dabei nicht anspricht, scheint die Wirkung dieser Alkaloide in einer Sensibilisierung gegenüber dem bei präganglionärer Reizung freigesetzten Acetylcholin zu bestehen. Eine nachfolgende Lähmung des Ganglions trat bei unseren

kleinen Alkaloidmengen nicht ein. KONZETT fand dagegen am durchströmten Cervicalganglion eine Verstärkung der Acetylcholinwirkung durch unterschwellige Dosen des in unseren Versuchen unwirksamen Lobelins. Für Nicotin konnte er diesen Effekt nicht nachweisen.

Die durch Cocain, Parpanit, My 301 und Chinin verursachte Ganglienlähmung konnte durch Nicotin und Cytisin ebenfalls antagonistisch beeinflußt werden. Nach FELDBERG wird durch Cocain, nach HARVEY durch Novocain die Acetylcholin-Freisetzung bei präganglionärer Dauerreizung gehemmt. Vielleicht kann man darin eine gewisse Analogie zum Zustand nach ermüdender Dauerreizung sehen. Die Annahme einer Sensibilisierung gegenüber Acetylcholin würde den Effekt von Nicotin und Cytisin von dieser Seite her verständlich machen. Andererseits ist eine Hauptwirkung der Lokalanaesthetica und des Parpanits nach FLECKENSTEIN u. HARDT die Membranstabilisierung. Dagegen lockern Nicotin und Acetylcholin die Membranen auf und wirken depolarisierend. Vielleicht besteht der Antagonismus kleinster Nicotin- und Cytisindosen gegenüber dem membranstabilisierenden Cocain, evtl. auch gegenüber Parpanit und My 301, in einer Auflockerung der Membranen der Ganglienzellen und einer Erleichterung ihrer Depolarisation durch das bei der Reizung freigesetzte Acetylcholin.

Gegen die sogenannten Ganglienblocker TEAB, Hexamethoniumbromid, Pendiomid und Arfonad waren Cytisin und Nicotin in den von uns verwendeten kleinen Dosen unwirksam. Die Ganglienblocker vom Typ des TEAB und des Hexamethoniumbromids wirken nach PATON u. PERRY durch Verdrängung des Acetylcholins von seinen spezifischen Rezeptoren, also als Competitionsblocker. Nicotin und Cytisin sind offenbar nicht in der Lage, diese Stoffe von den Acetylcholin-Rezeptoren zu verdrängen.

Zusammenfassung.

Nicotin und Cytisin heben schon in bemerkenswert kleinen Dosen (10 γ bzw. 2—5 γ /kg) die Ermüdung des Ganglion cervicale superius bei präganglionärer Dauerreizung teilweise auf.

Auch die durch Cocain, Parpanit, My 301 und (in schwächerem Maße) durch Chinin verursachten Ganglien-Lähmungen lassen sich mit ähnlichen Dosen von Nicotin und Cytisin in begrenzter Weise antagonistisch beeinflussen. Gegen Tetraäthylammoniumbromid, Hexamethoniumbromid, Pendiomid, Arfonad sowie gegen Atropin, Banthin und Buscopan waren Nicotin und Cytisin unwirksam.

Die mutmaßlichen Ursachen dieser unterschiedlichen Ansprechbarkeit gegenüber Nicotin werden diskutiert.

Herrn Prof. EICHHOLTZ sind wir für die Förderung der Arbeit sehr zu Dank verpflichtet.

Literatur.

ACHESON, G. H., and G. K. MOE: The action of tetraäthylammonium ion on the mammalian circulation. *J. of Pharmacol.* **87**, 220 (1946). — BARGER, G., and H. H. DALE: Chemical structure and sympathomimetic action of amines. *J. of Physiol.* **41**, 19 (1910). — BEIN, H. J., u. R. MEIER: Pharmakologische Untersuchungen über Pendiomid, eine neuartige Substanz mit ganglienblockierender Wirkung. *Schweiz. med. Wschr.* **1951**, 446. — BROWN, G. L., and W. FELDBERG: Synthesis of acetylcholine in the superior cervical ganglion. *J. of Physiol.* **86**, 40 P (1936). — CAHEN, R. L., et K. M. TVEDE: Action of atropine on sympathetic ganglia. *Arch. internat. Pharmacodynamie* **94**, 248 (1953). — EICHHOLTZ, F., et E. ROESCH: Pharmakologische Reaktionen an den Synapsen des NNmarks. *Arch. internat. Pharmacodynamie* **78**, 521 (1949). — FELDBERG, W.: Gegenwärtige Probleme auf dem Gebiet der chemischen Übertragung von Nervenwirkungen. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **212**, 64 (1950). — FLECKENSTEIN, A., u. A. HARDT: Der Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetika und Antihistaminikörper — ein Permeabilitätsproblem. *Klin. Wschr.* **1949**, 360. — FLURY, F., u. F. ZERNIK: Zusammenstellung der toxischen und letalen Dosen für die gebräuchlichsten Gifte und Versuchstiere. *Abderhalden, Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 7b*, S. 83. — FORST, A. W.: Zur Wirkung von gereinigtem Nicotin und Cholin auf den Kreislauf. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **201**, 261 (1943). — HARVEY, A. M.: The actions of procaine on neuro-muscular transmission. *Bull. Hopkins Hosp.* **65**, 223 (1939). — HEYMANS, C., J. J. BOUCKAERT et L. DAUTREBANDE: Sinus carotidiens et réflexes respiratoires. III. Sensibilité des sinus carotidiens aux substances chimiques. Action stimulante respiratoire réflexe du sulfure de sodium, du cyanure de potassium, de la nicotine et de la lobéline. *Arch. internat. Pharmacodynamie* **40**, 54 (1931). — KONZETT, H.: Zur Pharmakologie von Lobelin. *Arch. internat. Pharmacodynamie* **85**, 446 (1951). — KUSCHINSKY, G., u. R. HOTOVY: Über die zentral erregende Wirkung des Nicotins. *Klin. Wschr.* **1943**, 649. — MARAZZI, A. S.: Electrical studies on the pharmacology of autonomic synapses. I. The action of parasympathomimetic drugs on sympathetic ganglia. *J. of Pharmacol.* **65**, 18 (1939). — PATON, W. D. M., and E. J. ZAIMIS: The pharmacological action of polymethylene bis-trimethylammonium salts. *Brit. J. Pharmacol.* **4**, 381 (1949). — PATON, W. D. M., and W. L. PERRY: The relationship between depolarization and block in the cat's superior cervical ganglion. *J. of Physiol.* **119**, 43 (1953). — RANDALL, L. O., W. G. PETERSON and G. LEHMANN: The ganglionic blocking action of thiophanium derivatives. *J. of Pharmacol.* **97**, 48 (1949). — RIECHERT, W., u. H. SCHMIEDER: Vergleichende pharmakologische Untersuchungen der Adrenalin-Ephedrin-Körper. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **198**, 121 (1941). — SANN, E.: Der Einfluß des Nicotins in der Grenzdosis auf die Adrenalin ausschüttung der Nebennieren; Dissertation Heidelberg 1945. — SCHWEITZER, A., u. S. WRIGHT: Action of nicotine on the spinal cord. *J. of Physiol.* **94**, 136 (1938). — VAN SLYKE, C. B., and P. S. LARSON: Observations on the role of adrenal medulla in the blood pressure. *J. of Pharmacol.* **98**, 400 (1950). — STRAUB, W., u. A. AMANN: Nikotin und die Diätetik des Tabakrauchens. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **194**, 429 (1940). — TAUGNER, R., u. W. CULP: Über die Wirkung von Nicotin auf das Rückenmark der Katze. Einflüsse von Nicotin auf Patellarsehnen-, Flexor- und Extensorreflex vor und nach Zufuhr von Interneuronengiften. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, im Druck. — WRIGHT, S.: The mode of action of certain drugs which stimulate respiration. *J. of Pharmacol.* **54**, 1 (1935).

Weitere Einzelheiten und Literaturangaben sind in der Dissertation von Hans-Georg Knauff, Heidelberg 1953, enthalten.

Dr. med. EBERHARD SCHMID, Heidelberg, Pharmakologisches Institut.

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Szeged/Ungarn
(Direktor: Prof. Dr. I. GY. FAZEKAS).

Reduktionswirkung des Knoblauchs hinsichtlich der Blutalkoholuntersuchung.

Von

I. GY. FAZEKAS und B. RENGEI.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Januar 1954.)

Die Folgen einer Blutalkoholprobe können in vielen Fällen für das Schicksal der untersuchten Person entscheidend sein. Es ist also eine Aufgabe ersten Ranges festzustellen, ob außer dem Alkohol die verschiedenen Chemikalien, Arzneimittel, Gewürze oder Eßwaren die Reduktionsfähigkeit des Blutes beeinflussen oder nicht, und wenn ja, in welcher Richtung.

Die Konsumption großer Mengen Obst, besonders Trauben, verändert die Reduktionsfähigkeit des Blutes nur in geringem Maße. In solchen Fällen kann der Blutalkoholwert nach SCHÜCKLE auf 0,09—0,15, nach SCHWARTZACHER aber auf 0,18 Promille steigen. Nach ELBEL erhöht das Vorhandensein von Milchsäure, Glycerin, Acetaldehyd, Obst- und Fettsäuren, Aceton, Acetessigsäure und Oxybuttersäure im Blut dessen Reduktionsfähigkeit nur in geringem Maße (0,03 bis 0,06 Promille). BINZ, LANDSBERG, STROGIN und WINDSOR, SCHELB verabreichten Coffein, WIDMARK, FLEMING, REYNOLDS Adrenalin, GALAMINI, HIRSCHFELDER, MAXWELL Insulin, ELBEL, SIEGMUND Pervitin, ELBEL, WALTER Aspirin, ELBEL Veronal und Pyramidon und konnten danach keine wesentliche Veränderung im Blutalkoholgehalt feststellen. Nach BÖHMER vermindern das Aspirin und Pyramidon die Alkoholresorption und hemmen den Alkoholabbau; das Chinin hat hingegen auf die Alkoholkonzentration des Blutes keine Wirkung, obwohl es die Resorption beschleunigt. Beachtungswert ist die Behauptung von BECK, daß die Einatmung von Verbrennungsgasen den Blutalkoholwert nicht beeinflußt, trotzdem sie bei Durchströmung in vitro die Reduktionsfähigkeit des Blutes in beträchtlichem Maße steigern. Nach einer Chloroform- und Äthernarkose kann sich die Reduktionsfähigkeit des Blutes bis auf 1,50 Promille erhöhen (GRAMEN, KOLLER, SAAR und PAULUS, DOTZAUER). Paraldehyd und Bromäthyl reduzieren gleichfalls das Bichromat. Gleiche Wirkung üben auch Ester, das Kohlendioxyd, Methylphenol, Benzin und Benzol aus. Nach SCHULE haben die Phenolderivate, die ätherischen Öle, der Formaldehyd und das Wasserstoffsuperoxyd gleiche Reduktionswirkung. PAULUS beobachtete nach Einatmung von Benzoldämpfen keinen Anstieg in der Reduktionsfähigkeit des Blutes. HECKSTEDEN fand nach Einatmung von Benzin und Benzol eine Reduktionsfähigkeit des Blutes entsprechend 0,2—0,3 Promille Alkohol.

Unter den Kraftwagenführern gewisser Gebiete verbreitet sich die Ansicht, daß nach Knoblauchessen oder nach einer stark knoblauchhaltigen Speise im Blut bzw. in der ausgeatmeten Luft auch dann

„Alkohol“ nachgewiesen werden kann, wenn kein Alkoholgenuß stattfand, oder daß nach geringfügiger Alkoholaufnahme der Genuß von Knoblauch auf wesentlich höhere Alkoholeinverleibung hinweist, als tatsächlich Alkohol in den Organismus gelangte. Die Übersicht der uns zugänglichen Literatur gab keine Angaben über die Reduktionsfähigkeit des Knoblauchs in bezug auf den Blutalkohol. Daher wurden Untersuchungen vorgenommen, um folgende Fragen zu klären:

1. Reduzieren der Knoblauch sowie die daraus verfertigten Extrakte verschiedener Konzentration die schwefelsaure Kaliumbichromatlösung der WIDMARK-Bestimmung oder die schwefelsaure Kaliumpermanganatlösung der HARGERSchen Ausatemungsmethode, und wenn ja, in welchem Maße.

2. Verändert sich bzw. erhöht sich die Reduktionsfähigkeit des Blutes nach Konsumption bekannter Knoblauchmengen, und wenn ja, in welchem Maße.

Knoblauch (*Allium sativum*) enthält nach WEHMER 0,005—0,009% Knoblauchöl, in dem sich zu 6% Allylpropyldisulfid ($C_6H_{12}S_2$), zu 60% Diallyldisulfid ($C_6H_{10}S_2$) sowie zu 20% Diallyltrisulfid ($C_6H_{12}S_3$) und Diallyltetrasulfid ($C_6H_{12}S_4$) befindet. Das Knoblauchöl entsteht unter dem Einfluß des „Allisin“ genannten Enzyms neben Fructose aus dem angeblich primär anwesenden, „Aliin“ genannten Glykosid.

Von den übrigen Bestandteilen seien erwähnt: *Inulin*, *Myrosinase* oder *Sinigrinase* (d-Thioglykosidase), die in den Blättern, der Blüte und Wurzel des Knoblauchs, aber auch in anderen Pflanzen vorkommt, und *Cholin*, dessen konzentrierte Lösung beim Kochen unter Bildung von Trimethylamin, Äthylenglykol und wahrscheinlich auch Äthylenoxyd zerfällt.

Angaben über die chemische Wirkung des Knoblauchs konnten in der uns zugänglichen Literatur nicht vorgefunden werden. Nach unseren Versuchen hat der Knoblauch und das daraus verfertigte wäßrige Extrakt sauren Charakter. Zur Neutralisierung der in 1 g Knoblauch befindlichen Säure sind 2,35 mg KOH nötig.

In unseren Versuchen wurde in je 100 ml Aqua bidestillata 5, 10, 20, 30 g zerstückelter und zerriebener Winterknoblauch während einer bzw. 24 Std bei 20° C Zimmertemperatur in geschlossenen Gefäßen extrahiert, wobei von Zeit zu Zeit gründlich aufgeschüttelt wurde. Das Knoblauchresiduum hatte noch eine kräftige Reduktionswirkung, die nicht weiter untersucht wurde. Die wäßrige Flüssigkeit war eine stark nach Knoblauch riechende, opaleszierende Emulsion. Von diesen Extrakten wurden mittels Capillaren an der Torsionswaage 90—110 mg abgewogen und in das Körbchen des zur WIDMARKschen Blutalkoholprobe gebrauchten Kolbens gebracht und die Reduktion von schwefelsaurem Kaliumbichromat nach WIDMARK untersucht. Von jedem Extrakt wurden in 10 Fällen je 3 Bestimmungen durchgeführt, deren Mittelwert als Ergebnis angenommen. Die Rechnungen wurden nach WIDMARK mit dem Faktor 113 vorgenommen. Die auf Äthylalkohol bezogenen Werte finden sich in Tab. 1.

Tabelle 1. Auf Äthylalkohol bezogene Reduktionsfähigkeit von wäßrigen Knoblauchextrakten nach WIDMARK.

	5 % ige	10 % ige	20 % ige	30 % ige	5 % ige	10 % ige	20 % ige	30 % ige
Nr.	Verdünnung von Knoblauchextrakt							
	nach 1 Std Extraktion				nach 24 Std Extraktion			
	Reduktion ausgedrückt als Promille Äthylalkohol:							
1.	0,63	0,80	1,28	1,65	1,17	1,37	1,63	1,95
2.	0,64	0,82	1,27	1,67	1,15	1,35	1,65	1,97
3.	0,62	0,80	1,27	1,67	1,17	1,38	1,65	1,96
4.	0,64	0,77	1,30	1,65	1,16	1,37	1,64	1,94
5.	0,62	0,79	1,28	1,64	1,18	1,36	1,66	1,95
6.	0,63	0,80	1,27	1,63	1,16	1,37	1,63	1,94
7.	0,63	0,80	1,29	1,64	1,17	1,37	1,64	1,97
8.	0,64	0,82	1,28	1,65	1,15	1,36	1,65	1,96
9.	0,62	0,78	1,28	1,65	1,16	1,35	1,66	1,95
10.	0,63	0,80	1,28	1,65	1,17	1,38	1,65	1,97
Im Mittel ausgedrückt:								
	0,63	0,798	1,29	1,65	1,164	1,366	1,646	1,956

Nach 1 Std Extraktion zeigte das 5%ige Extrakt eine Reduktion entsprechend 0,62—0,64 Promille Äthanol (Mittelwert von 10 Extraktionen 0,63), das 10%ige 0,77—0,82 (im Mittelwert 0,80), das 20%ige Extrakt 1,27—1,20 (im Mittelwert 1,29), das 30%ige 1,63—1,67 (im Mittelwert 1,65) Promille Alkohol. —

Nach 24 Std Extraktion waren die Zahlen: 5%iges Extrakt 1,15—1,17 (im Mittelwert 1,16), 10%iges 1,35 bis 1,38 (im Mittelwert 1,37), 20%iges 1,63—1,66 (im Mittelwert 1,65), 30%iges Extrakt 1,94—1,97 (im Mittelwert von 1,956) Promille Äthylalkohol entsprechend.

Die Knoblauchextrakte reduzierten das Kaliumbichromat im Verhältnis zu ihrer Konzentration in beträchtlichem Maße.

Die reduzierende Fähigkeit der Knoblauchextrakte wurde auch mit der HARGERschen schwefelsauren n/20 Kaliumpermanganat- sowie mit der NAGYschen n/5 alkalischen Permanganatlösung untersucht. Als Ergebnis wurde festgestellt, daß die Knoblauchextrakte verschiedener Konzentration beide Kalium-

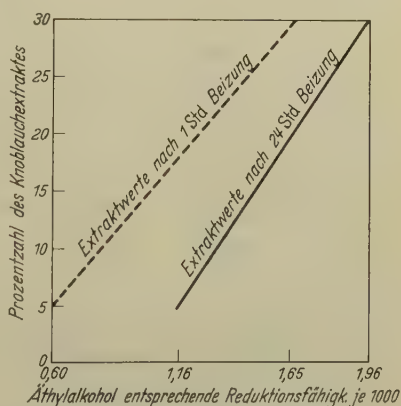


Abb. 1. Reduktionsfähigkeit von Knoblauchextrakten verschiedener Konzentration in Äthylalkoholwerten.

permanganatlösungen stark reduzierten, d. h. das schwefelsaure Kaliumpermanganat entfärben, das alkalische aber grün färben.

Danach wurde die Reduktionsfähigkeit im Blut aus der Fingerbeere bei 10 gesunden Menschen (7 Männer, 3 Frauen) verschiedenen Alters (20—50 Jahren) zu verschiedenen Zeitpunkten vor und nach dem Genuß von 5, 7, 10, 11 g Winterknoblauch mit der Widmark-Methode untersucht. Die Bestimmungen wurden bei 5 Personen $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3, 4 Std, bei 5 anderen 5, 6, 7, 8 Std nach der Konsumption durchgeführt. — Der sehr zerstückelte Knoblauch wurde immer morgens um 8 Uhr, in 7 Fällen binnen 5—10 min mit verschiedener Menge Brot und Speck, in 3 Fällen ohne andere Speise verzehrt, dann wurde 1 dl Wasser getrunken. 4 Personen aßen den Knoblauch mit Speck und Brot auf nüchternen Magen, 6 Personen aber 30 bis 90 min nach dem Frühstück, das aus gezuckertem Tee und Brot bestand. Um den normalen Blutalkoholwert zu bestimmen, wurde Blut auch unmittelbar vor dem Knoblauchverzehren entnommen.

Tabelle 2. *Reduktionswirkung von Alkohol und Knoblauchextrakt verschiedener Konzentration auf das schwefelsaure und alkalische KMnO_4 .*

Reduktionswirkung von 1 Promille Alkohol auf das n/20 schwefelsaure KMnO_4 .

Nr.	Alkohol ml	Alkohol mg	Reduziertes KMnO_4		Unter- schied mg	Mittelwert mg	Entspricht abs. Alkohol mg	Farbe
			ml	mg				
1.	5	5	1	1,58	0	1,58	0,215	Citronen- gelb
2.	5	5	1	1,58			0,215	
3.	10	10	2	3,16	0,474	3,39	0,430	„
4.	10	10	2,3	3,63			0,514	
5.	20	20	3,5	5,53	0,474	5,76	0,752	„
6.	20	20	3,8	6,00			0,817	

Reduktionswirkung von 1 Promille Alkohol auf das alkalische n/5 KMnO_4 .

1.	5	5	—	—	—	—	—	Lila
2.	10	10	—	—	—	—	—	„
3.	15	15	—	—	—	—	—	„
4.	20	20	0,4	2,528	1,264	1,896	0,3420	„
5.	20	20	0,2	1,264			0,1710	„

Reduktionswirkung von 2 Promille Alkohol auf das alkalische n/5 KMnO_4 .

1.	5	10	—	—	—	—	—	Lila
2.	10	20	0,2	1,264	1,264	1,896	0,1710	Grün
3.	10	20	0,4	2,528			0,3420	
4.	15	30	0,2	1,264	1,264	1,896	0,1710	„
5.	15	30	0,4	2,528			0,3420	
6.	20	40	0,4	2,528	1,264	1,896	0,3420	„
7.	20	40	0,2	1,264			0,1710	

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

Reduktionswirkung von 1 ml Knoblauchextrakt (nach 1 Std Beizung)
auf das n/20 schwefelsaure KMnO_4 .

Nr.	%iges Knoblauchextrakt	Reduziertes KMnO_4		Unterschied mg	Mittelwert mg	Reduktionsfähigkeit auf mg Alkohol bezogen	Farbe
		ml	mg				
1.	10	0,6	0,94	0,158	0,869	0,1290	Blaß-
2.	10	0,5	0,79			0,1075	rosa
3.	20	1,2	1,89	0,632	2,212	0,2580	..
4.	20	1,6	2,52			0,2150	..
5.	30	2,5	3,95	0,790	3,555	0,4375	..
6.	30	2,0	3,16			0,4300	..

Reduktionswirkung von 1 ml Knoblauchextrakt (nach 24 Std Beizung)
auf das n/20 schwefelsaure KMnO_4 .

1.	10	0,7	1,10	0,316	0,948	0,1500	Blaß-
2.	10	0,5	0,79			0,1075	rosa
3.	20	1,5	2,37	0,477	2,607	0,3225	..
4.	20	1,8	2,84			0,3870	..
5.	30	3,4	5,37	0,632	5,056	0,7320	..
6.	30	3,0	4,74			0,6450	..

Reduktionswirkung auf 1 ml Knoblauchextrakt (nach 1 Std Beizung)
auf das alkalische n/5 KMnO_4 .

1.	10	0,4	2,528	1,264	3,160	0,3420	Grün
2.	10	0,6	3,792			0,5130	..
3.	20	1,4	8,848	0,632	9,164	1,1970	..
4.	20	1,5	9,480			1,2825	..
5.	30	1,4	8,848	1,264	9,480	1,1970	..
6.	30	1,6	10,112			1,3680	..

Reduktionswirkung von 1 ml Knoblauchextrakt (nach 24 Std Beizung)
auf das alkalische n/5 KMnO_4 .

1.	10	0,4	2,528	1,264	3,164	0,3420	Grün
2.	10	0,6	3,792			0,5130	..
3.	20	1,7	10,744	0,632	10,428	1,4535	..
4.	20	1,6	10,112			1,3680	..
5.	30	1,4	8,848	0,632	8,664	1,1970	..
6.	30	1,5	9,480			1,2825	..

Der normale Alkoholwert (Reduktionsfähigkeit) des Blutes wurde in unseren Fällen bei 0,018—0,089 Promille gefunden. Die Nüchternwerte (0,018—0,027 Promille) und die Werte nach Aufnahme des gezuckerten Tees (0,033—0,089) wiesen keinen beträchtlichen Unterschied auf.

Nach KÜHN beträgt der normale Wert 0,0213 Promille, nach FRIEDEMANN und KLAAS 0,01—0,04 Promille, nach JUNGMICHEL 0,07 Promille, nach HECKSTEDEN steht aber der normale Wert der oberen Grenze bei 0,1 Promille. KÜHN beobachtete bei kohlenhydratreichen Speisen, daß der Blutalkoholwert auch auf 0,085 Promille ansteigen kann. Damit ist der 0,089 Anfangswert auch in unserem 10. Fall zu erklären.

Tabelle 3. *Reduktionsfähigkeit des Blutes vor und nach Knoblauchkonsumption.*

Nr.	Alter und Geschlecht	Körpergewicht kg	Knoblauch Konsumierter g	Weise der Knoblauchkonsumption	Verzehrtete Speise vor dem Anfangswert	Reduktionsfähigkeit des Blutes in Alkoholwert/Promille										
						vor der	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	
							Std nach der									
Knoblauchkonsumption																
1.	28 j. Mann	63	5	m. 15 dkg geschnitzten. Brot	—	0,0279	0,0284	0,0283	0,0280	0,0252	0,0259	—	—	—	—	—
2.	40 j. Frau	60	5	m. 3 dkg Speck u. 10 dkg Brot	90 min. vorher 2 dl Tee, 20 g Zucker	0,0275	0,0283	0,0280	0,0279	0,0270	0,0279	—	—	—	—	—
3.	50 j. Mann	94	5	m. 5 dkg Speck u. 10 dkg Brot	30 min vorher 4 dl Tee, 40 g Zucker	0,0330	0,0342	0,0310	0,0336	0,0324	0,0329	—	—	—	—	—
4.	25 j. Mann	66	7	m. 7 dkg Speck u. 15 dkg Brot	—	0,0187	0,0183	0,0192	0,0187	0,0194	0,0197	—	—	—	—	—
5.	48 j. Mann	75	11	—	30 min. vorher 2 dl Tee, 20 g Zucker	0,0301	0,0310	0,0342	0,0333	0,0311	0,0322	—	—	—	—	—
6.	20 j. Frau	48	5	—	—	0,0192	—	—	—	—	—	0,0191	0,0199	0,0186	0,0187	—
7.	26 j. Mann	67	5	m. 5 dkg Speck u. 10 dkg Brot	50 min. vorher 2 dl Tee, 20 g Zucker	0,0293	—	—	—	—	—	0,0284	0,0278	0,0282	0,0288	—
8.	27 j. Mann	77	5	—	30 min vorher 2 dl. Kaffee, 20 g Zucker, 6 dkg Brot	0,0273	—	—	—	—	—	0,0270	0,0271	0,0273	0,0270	—
9.	31 j. Frau	52	5	m. 2 dkg Speck u. 4 dkg Brot	—	0,0215	—	—	—	—	—	0,0219	0,0212	0,0210	0,0204	—
10.	50 j. Mann	86	10	m. 5 dkg Speck u. 15 dkg Brot	80 min. vorher 2 dl Tee, 30 g Zucker	0,089	—	—	—	—	—	0,115	0,078	0,091	0,087	—

Die Blutalkoholwerte nach dem Knoblauchgenuß befinden sich in Tab. 3. Aus diesen Angaben geht hervor, daß sich die Reduktionsfähigkeit bzw. der Alkoholgehalt des Blutes nach Verzehung von 5—11 g Knoblauch nicht beachtenswert verändert und deshalb hinsichtlich der Blutalkoholbestimmung ganz außer acht gelassen werden kann. (Die 5 g bestanden aus 2, die 11 g aus 4 Zehen; größere Mengen Knoblauch pflegt man auf einmal nicht zu verzehren.)

Parallel mit der WIDMARKSchen Blutalkoholprobe wurde in jedem Fall auch die HARGERSche Ausatmungsprobe durchgeführt, die Farbenveränderung der Kaliumpermanganatlösung (Reduktion) konnte in keinem Fall festgestellt werden.

Letzten Endes kann also die Selbstverteidigung einzelner Kraftwagenführer auf keine Weise angenommen werden, daß nämlich der Knoblauchgenuß die Reduktionsfähigkeit des Blutes steigert, wenn ein Alkoholgenuß im übrigen ausgeschlossen ist.

Es ergibt sich nun die Frage, was der Grund dafür ist, daß durch die Reduktionsproben mit Knoblauch *in vitro* und *in vivo* entgegengesetzte Ergebnisse erzielt werden, d. h. warum steigerte sich die Reduktionsfähigkeit des Blutes nach Verzehung von 5—11 g Knoblauch nicht. Daran kann nicht gedacht werden, daß die Bestandteile des Knoblauchs aus dem Magen nicht resorbiert werden; nach allgemeiner Erfahrung spürt man nämlich nach Knoblauchgenuß in der ausgeatmeten Luft einen starken Knoblauchgeruch, was auch in unseren Fällen bestätigt werden konnte. Auch bei zahlreichen Sektionen konnte starker Knoblauchgeruch an verschiedenen Organen, besonders an der Leber und Lunge, bei Personen gespürt werden, die einige Stunden vor ihrem Tod Knoblauch aßen, dessen Stückchen im Magen bzw. in den Därmen noch gut zu erkennen waren. Unserer Ansicht nach kann die Ursache der Unveränderlichkeit des Blutalkoholwertes nach dem Knoblauchverzehren darin bestehen, daß *die einverleibte, verhältnismäßig kleine Knoblauchmenge zur Steigerung der Reduktionsfähigkeit des Blutes nicht ausreicht*. Auch könnte die Blutkonzentration der reduzierenden Knoblauchbestandteile durch Ausscheidung und Abbau vermindert sein.

Zusammenfassung.

1. Das wäßrige Knoblauchextrakt von verschiedener Konzentration reduziert im Verhältnis zu seiner Konzentration *in vitro* kräftig die zur WIDMARKSchen Blutalkoholprobe gebrauchte schwefelsaure Kaliumbichromatlösung und schwefelsaure wie alkalische Kaliumpermanganatlösung. Die Säurezahl des Knoblauchs wurde zu 2,35 gefunden.

2. $\frac{1}{2}$ —8 Std nach Verzehung von 5—11 g Knoblauch übte das Menschenblut auf die schwefelsaure Kaliumbichromatlösung der WIDMARKSchen Blutalkoholbestimmung keine beachtenswerte Reduktionswirkung aus.

3. Auch die $\frac{1}{2}$ —8 Std nach dem Knoblauchgenuß durchgeführte HARGERSche Ausatemungsalkoholprobe blieb in jedem Fall negativ.

4. Die Selbstverteidigung gewisser Kraftwagenführer, daß sich nämlich die WIDMARK- und HARGERSche Blutalkoholbestimmung nach Knoblauchverzehren als positiv erweisen könnte, kann auf Grund der Punkte 2 und 3 auf keine Weise angenommen werden.

Literatur.

BECK, W. V.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **33**, 95 (1940). — BEILSTEIN, F.: Hdb. d. org. Chemie. Bd. 1, 1918, Bd. 4. Berlin: Springer 1922. — BINZ: Zit. bei PAZÁR. — BÖHMER, K.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **30**, 205 (1938). — DOTZAUER, G.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **40**, 170 (1950/51). — ELBEL, H.: Die wissenschaftlichen Grundlagen der Beurteilung von Alkoholbefunden. Leipzig: G. Thieme 1937. — Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 298 (1936); **30**, 218 (1938); **36**, 90 (1942). — ELBEL, H., u. J. SCHMELZ: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **33**, 259 (1940). — FLEMING, R.: Arch. of Neur. **33**, 492 (1935). Ref. Zbl. Neur. **77**, 25 (1935). — FRIEDEMANN and KLAAS: J. of Biol. Chem. **115**, 47 (1936). — GRAMEN: Zit. bei E. POULSSON. — GYÖNGYÖSI, J.: Orv. Hetil. **1953**, 539. — HECKSTEDEN, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **30**, 90 (1938); **37**, 72 (1943). — HECKSTEDEN, W., u. W. FEHLER: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **36**, 311 (1942). — JUNGMICHEL, G.: Alkoholbestimmung im Blut. Methodik u. forensische Bedeutung. Berlin: K. Heymann 1933. — KASSAI, A.: Orv. Hetil. **1939**, 465. — KLEIN, G.: Hdb. d. Pflanzenanalyse. Wien: Springer 1932. — KOLLER, J.: Dtsch. gerichtl. Med. **26**, 234 (1936). — KÜHN, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **103**, 295 (1924). — NAGY, J.: Kisérletes Orvostudomány **2**, 397 (1950); **5**, 148 (1953). — PAULUS, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **33**, 216 (1940); **39**, 280 (1948/49); **40**, 145 (1950). — PAULUS, W., u. H. SAAR.: Wien. Beitr. gerichtl. Med. **16**, 110 (1942). — PAZÁR, Z.: Az ittasság és az iszákosság, valamint ennek jelentősége az igazságszolgáltatásban. Budapest: Magyar Orvosi Könyvkiadó 1942. — POULSSON, E.: Lehrb. d. Pharmakologie. Leipzig 1937. — SAAR, H., u. W. PAULUS: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **34**, 467 (1941); **35**, 28 (1942). — SCHELB: Zit. bei H. ELBEL 1937. — SCHÜCKLE, H.: Wien. klin. Wschr. **1937**, 1150. — SCHWARTZACHER, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **29**, 518 (1938). — SIEGMUND, B.: Dtsch. med. Wschr. **1939**, 754. — STROGIN u. WINDSOR: Zit. bei H. ELBEL 1937. — WALTER, U.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **30**, 243 (1938). — WEHMER, C.: Die Pflanzstoffe. Jena: G. Fischer 1929. — WIDMARK, E.: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlichen-medizinischen Alkoholbestimmung. Wien: Urban u. Schwarzenberg 1932. — GALAMINI, HIRSCHFELDER, LANDSBERG, MAXWELL, REYNOLDS u. SCHUHLE wurden bei J. GYÖNGYÖSI zitiert.

Prof. Dr. I. GY. FAZEKAS, Szegedi Tudományegyetem, Törvényszéki Orvostani Intézet, Kossuth Lajos-sugárút 40, Szeged (Ungarn).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. B. BEHRENS).

Über das Vorkommen von 5-Hydroxytryptamin (Enteramin oder Serotonin) im Gehirn von Säugetieren*.

Von
GERHARD ZETLER und LUCIE SCHLOSSER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Januar 1954.)

5-Hydroxytryptamin, das wir hier nur Enteramin nennen wollen, wird nach ERSPAMER (1953) von den enterochromaffinen Zellen gebildet und ist als spezifisches Produkt des „Enterochromaffinen Systems“ anzusehen. ERSPAMER (1953) lehnt demnach die Ansichten von RAND u. REID (1951) sowie RAPPORT, GREEN u. PAGE (1948a, b, c) über eine Verknüpfung des Enteramins mit Blutgerinnungsvorgängen und mit dem Mechanismus der Blutungsstillung ab, ebenso die Ansicht von TAYLOR, PAGE u. CORCORAN (1951), wonach Enteramin als „cerebral vasopressor principle“ eine Rolle bei bestimmten Formen der Hypertonie sowie bei der Blutdrucksteigerung nach Reizung des zentralen Vagusstumpfes spielen soll (ERSPAMER, 1952). Während Enteramin nach TAYLOR u. PAGE (1952) auch vom Mesencephalon gebildet werden soll, lehnt ERSPAMER (persönliche Mitteilung 1953) die Möglichkeit einer Enteraminbildung durch das Gehirn ab, da hier die enterochromaffinen Zellen fehlen. Nach AMIN, CRAWFORD u. GADDUM (persönliche Mitteilung an M. VOGT 1953) soll jedoch Enteramin in Hirnextrakten vorkommen.

Diese Möglichkeit würde eine praktische pharmakologische Bedeutung deshalb besitzen, da quantitative Untersuchungen über das Vorkommen von Substanz P im Zentralnervensystem diese Tatsache berücksichtigen müßten. Hatten doch GADDUM (1953) sowie FELDBERG u. TOH (1953) gezeigt, daß bei der gleichzeitigen Anwesenheit von Enteramin und Substanz P in Extrakten z. B. aus Darm zu hohe Substanz P-Werte erhalten werden; diese Autoren gaben jedoch auch einen Weg an zur Vermeidung fehlerhafter Substanz P-Werte bei der Auswertung solcher Extrakte. Doch hatten PERNOW (1953) sowie KOPERA u. LAZARINI (1953) diese Tatsachen bei ihren Untersuchungen über den Substanz P-Gehalt des Gehirns noch nicht berücksichtigen können.

Bei Vorarbeiten zu unseren Versuchen über den Substanz P-Gehalt der Gehirne von Rind und Mensch (ZETLER u. SCHLOSSER 1953, 1954)

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

erhielten wir Ergebnisse, die für das Vorkommen von Enteramin im Gehirn von Säugetieren sprechen. Bei diesen Untersuchungen erwies sich das isolierte Herz der Weinbergschnecke *Helix pomatia* als sehr günstig, besonders da sich herausstellte, daß dieses Präparat für Substanz P unempfindlich ist.

Methodik.

Die Versuche an isolierten Därmen sowie an nach STRAUB isolierten Froschherzen wurden in der allgemein üblichen Weise vorgenommen; die Nährlösungen hatten die gewohnte Zusammensetzung und enthielten bei den Darmversuchen Atropin und Neo-Attergan $1 \cdot 10^{-6}$. Die Präparation des Froschrectums geschah nach SCHÜLLER (1921). Dieses Präparat hat sich W. VOGT (1953) bei der Identifizierung von Organextrakten sehr bewährt; dieser Autor hat auch die für den Problembereich „Organextrakt“ wichtigen pharmakologischen Eigenschaften des Froschrectums näher untersucht.

Die Herzen von *Helix pomatia* wurden an einer FÜHNERSchen Kanüle isoliert, die Kontraktionen von einem isotonischen Hebel aufgezeichnet. Die Präparation gelingt wegen des einfachen Baues des Herzens sehr leicht; bei vorsichtigem Vorgehen erhält man stundenlang gleichmäßig arbeitende Präparate. Sehr wichtig ist die Wahl der Nährlösung; uns bewährte sich sehr gut die Kaltblüterlösung von SCHÜLLER (1921). Bei den zahlreichen, sonst noch beschriebenen Kaltblüter-Nährlösungen, die wir zuvor ausprobiert hatten, gerieten die *Helix*-Herzen besonders bei der Anwendung von Pharmaka in irreversible Kontrakturstände. Brauchbare Lösungen für Schneckenherzen finden sich auch in der Monographie von JULIEN (1936).

Wir danken Herrn Prof. Dr. V. ERSFAMER (Pharmakologisches Institut der Universität Bari, Italien) für die Überlassung von Enteramin-Pikrat sowie Herrn Prof. Dr. R. K. RICHARDS (Abbott Laboratories, North Chicago, Ill., USA) für die Überlassung von Serotonin-Kreatinin-Phosphat.

Ergebnisse.

Frisches Gehirnmateriel vom Rind wurde mit schwefelsaurem Wasser-Methanol-Gemisch 1 : 1 (pH 2—3) 1 min lang heiß extrahiert (Wasserbad), filtriert, und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,9% iger NaCl-Lösung aufgenommen, auf pH 4 eingestellt, filtriert und mit $(NH_4)_2SO_4$ bei $0^\circ C$ gesättigt. Aus der Fällung wurde unter Beseitigung von $(NH_4)_2SO_4$ (DALGLIESH, TOH u. WORK 1953) Substanz P gewonnen, die Mutterlauge mit 3 Volumen Äthanol versetzt (Abscheidung von $(NH_4)_2SO_4$), das Überstehende abgetrennt, auf dem Wasserbade eingedampft und in der entsprechenden RINGER-Lösung aufgenommen. Auf diese Weise erhielten wir zwei Fraktionen.

Diese beiden Fraktionen wurden an verschiedenen Darmpräparaten erprobt, wodurch sich die in Tab. 1 zusammengefaßten Ergebnisse ergaben. Diese Resultate sprechen für die Anwesenheit von Enteramin in der Mutterlauge, da — selbstverständlich nur bei adäquater Dosierung — die isolierten Därme a und b erfahrungsgemäß besonders für Substanz P, die Därme c und d besonders für Enteramin empfindlich sind.

Dieses Vorgehen ähnelt weitgehend dem Versuchsgang, durch den W. VOGT (1953) aus einem rohen, allerdings aus Darmgewebe gewonnenen Substanz P-Extrakt durch Aussalzen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ eine Fraktion „DS“ abtrennte, die in der Mutterlauge zurückblieb; unser Mutterlauge-Extrakt entspricht demnach dieser Fraktion DS. W. VOGT (1953) hat außer pharmakologischen Versuchen auch biochemische Reaktionen mit Fraktion DS durchgeführt, die wohl auch für unseren Mutterlauge-Extrakt gültig sind: DS hatte denselben R_f -Wert wie Enteramin und zeigte wie dieser Stoff Diazo-Reaktion mit p-Nitranilin und Violettfärbung mit KJO_3 . W. VOGT (1953) hob die große Ähnlichkeit seiner Fraktion DS mit Enteramin hervor.

Tabelle 1.

	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung	Mutterlauge
a) Kaninchenjejunum	Kontraktion	Ø
b) Meerschweinchenileum	Kontraktion	Ø
c) Rattenileum	Ø	Kontraktion
d) Froschrectum	Ø	— Kontraktion

In diesem Sinne sprachen auch unsere Versuche am isolierten Herzen von *Helix pomatia*. Dieses Herz reagiert schon auf sehr kleine Enteramindosen in positiv ino- und chronotropem Sinne (ERSPAMER u. GHIRETTI 1951). Ebenso wie JULLIEN, VINCENT, VUILLET u. BOUCHET (1939) fanden wir, daß das Helixherz in demselben Sinne wie das Froschherz schon auf sehr kleine Acetylcholinindosen anspricht, daß jedoch Adrenalin nur negativ inotrop wirkt (und zwar erst in recht hohen Dosen, etwa bei 30—100 γ/ml), daß schließlich Histamin eine Steigerung der Amplitudengröße und eine Hebung der Fußpunkte hervorruft. Es sei erwähnt, daß in unseren Versuchen Nor-Adrenalin nicht anders, allenfalls schwächer wirkte als Adrenalin. — Abb. 1 zeigt die typische Histamin- und Enteraminwirkung am Schneckenherz; von Histamin benötigten wir eine mehr als 100 mal höhere Dosis, um eine ebenso starke Vergrößerung der Amplitude zu erzielen wie nach Enteramin. Besonders auffallend und für die Histaminwirkung charakteristisch war das Ausbleiben einer Frequenzsteigerung auch nach stärksten Histamindosen. Die Hirnextrakte jedoch hatten außer einer positiv ino- auch immer eine ausgeprägte positiv chronotrope Wirkung; so entsprach die Wirksamkeit des Hirnextraktes von Abb. 1 fast völlig der zum Vergleich gegebenen Enteramindosis. Es sei noch erwähnt, daß das Pikrat des 5-Hydroxytryptamins qualitativ und quantitativ bei optimal arbeitenden Präparaten dieselbe Wirksamkeit hatte wie das Kreatininphosphat (bei Dosierung nach dem Basengehalt).

Die Ansprechbarkeit des Schneckenherzens für Histamin beeinträchtigt leider die Eignung dieses Präparates für die Enteramin-Auswertung, wenn auch Gewebsextrakte nur höchst selten so hohe Histaminkonzentrationen enthalten dürften, daß Störungen eintreten könnten. Wir

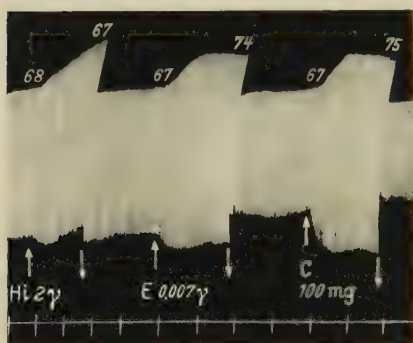


Abb. 1. Wirkung von Histaminhydrochlorid (H1; Dosis bezogen auf das Salz), Enteraminpikrat (E; Dosis bezogen auf die Base) und Rohextrakt aus Trigonum hypoglossi des Rindes (C; Dosis bezogen auf das Frischgewicht) auf das isolierte Herz von *Helix pomatia*. Die über der Kurve stehenden Zahlen bedeuten die Herzfrequenz pro Minute. Senkrechter Pfeil nach unten: Erneuerung der Nährlösung und Anhalten des Kymographions für 3 min. Zeitsignale: Minuten.

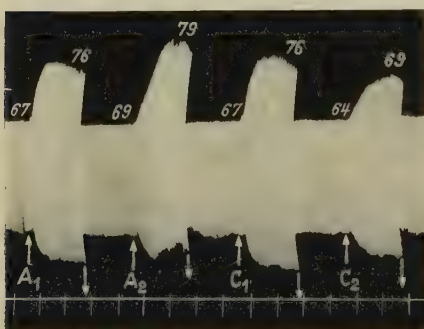


Abb. 2. Isoliertes Herz von *Helix pomatia*. A₁ und C₁: Rohextrakte von *Ala cinerea* (A) und *Trigonum hypoglossi* (C); A₂ und C₂: Acetongereinigte Extrakte. Dosis: Je 100 mg Frischsubstanz.

versuchten deshalb, die Empfindlichkeit des Herzens für Histamin durch Neo-Antergan ($1 \cdot 10^{-6}$) bzw. die für Enteramin durch Dihydroergotamin ($2 \cdot 10^{-6}$ — $2 \cdot 10^{-5}$) zu vermindern oder aufzuheben; dies gelang jedoch nicht (die Pharmaka selbst hatten keine Eigenwirkung auf das Herz). Dies ist umso interessanter, da auch JULLIEN (1936) schon gezeigt hatte, daß am *Helix*-Herzen Atropin die Acetylcholinwirkung nicht aufhebt.

Substanz P wirkt am *Helix*-Herzen nicht, wie die Abb. 2 zeigt: Extrakte von Rindergehirn (ZETLER u. SCHLOSSER 1953) aus *Ala cinerea* (486 Einheiten Substanz P pro g Frischgewicht) hatten eine ebenso starke Wirkung wie Extrakte aus *Trigonum hypoglossi* (34 E Subst. P/g); Versetzen der Rohextrakte mit dem 20fachen Volumen Aceton (über Nacht im Eisschrank), wodurch 70% der Substanz P gefällt wurden, änderte die Herzwirksamkeit der Extrakte nicht (Abdampfen des Acetons nach Filtration, Lösen des Rückstandes in Kaltblüter-RINGER-Lösung; Enteramin ist acetonlöslich). Da nach unseren Versuchen auch

Histamin durch Aceton zu etwa 70% gefällt wird, kann diese Substanz zur Wirksamkeit dieser Hirnextrakte gleichfalls nicht beigetragen haben.

Auch am wichtigsten Auswertungsobjekt für Enteramin, dem atropinisierten Uterus der brünstigen Ratte, wirkten diese acetongereinigten Hirnextrakte erregend, nicht jedoch am Herzen von *Rana temporaria*, bei dem auch Enteramin selbst wirkungslos ist.

Diskussion.

Diese Versuche wurden im Sommer 1953 unternommen und ihr Ergebnis bereits einmal kurz angedeutet (ZETLER u. SCHLOSSER 1953). Im Herbst 1953 erschien nun eine Arbeit von TWAROG u. PAGE, die mittels des für Enteramin gleichfalls sehr empfindlichen Herzens der Muschel *Venus mercenaria* Enteramin in Hirnextrakten nachwies. Diese Autoren identifizierten Enteramin in ihren Extrakten auch mit Hilfe der Papierchromatographie biochemisch. Dies war uns nicht gelungen, da wir zu niedrig konzentrierte Extrakte angewandt hatten; deshalb hatten wir bisher auch von einer Publikation unserer Ergebnisse abgesehen. Immerhin benötigten TWAROG u. PAGE den Extrakt aus 1 g Frischgehirn, um einen eben sichtbaren Fleck in Papierchromatogramm zu erzielen. In der Tat sind die im Gehirn vorkommenden Enteraminmengen nur sehr gering; TWAROG u. PAGE fanden 0,1—0,36 γ Base/g, im Extrakt unserer Abb. 1 wären 0,07 γ Base/g enthalten. Übrigens sind nach ERSPAMER (1954) die von TWAROG u. PAGE (1953) angewandten Identifizierungsmethoden für Enteramin unzureichend.

Nach alledem ist so gut wie sicher, daß in Hirnextrakten der beschriebenen Art Enteramin vorkommt; daran zweifelt auch ERSPAMER (1954) nicht mehr. Daraus wird man allerdings kaum direkt schließen dürfen, das Gehirn könne Enteramin bilden; ERSPAMERS Hypothese ist unseres Erachtens durch die Anwesenheit von Enteramin im Gehirn nicht gefährdet oder gar widerlegt. Man darf nämlich nicht vergessen, daß in Hirnextrakten nur sehr geringe, im Blute jedoch recht erhebliche Enteramin-Konzentrationen vorkommen; so fanden RAPPORT, GREEN u. PAGE (1948) sowie REID (1952) im Blutserum 1—6 γ /ml Serotonin-Kreatininsulfat (d. h. im Vollblut etwa 0,5—3 γ /ml), ERSPAMER u. FAUSTINI (1953) im Blutserum etwa von Rind oder Katze 1,5—3,8 γ /ml Enteramin (d. h. im Vollblut etwa 0,8—2,0 γ /ml Enteramin). Danach ist es angesichts der starken Durchsetzung des Hirngewebes mit Capillaren sowie seiner ausgezeichneten Durchblutung wohl möglich, daß die recht geringen Enteramin-Konzentrationen, die sich im Gehirn finden ($< 1 \gamma$ /g Frischgewicht), mindestens zum größten Teil dem im Hirngewebe enthaltenen Blute entstammen. Eine ähnliche Überlegung strengte HOLTZ (1950) an, als er die ebenfalls sehr kleine Konzentration an Nor-Adrenalin, die er im Gehirn fand (etwa 0,02 γ /g), zu erklären suchte; er dachte dabei an die das Gehirn versorgenden Blutgefäße. Unterschiede im Enteramingehalt einzelner Hirnabschnitte könnten demnach durch verschieden starke Vascularisation verursacht werden. Dies käme in Frage für den Enteramingehalt der Area postrema, die weit mehr Enteramin enthält als der übrige Boden des IV. Ventrikels (AMIN, CRAWFORD u. GADDUM, zitiert nach ERSPAMER, 1954); die Area postrema ist jedoch andererseits auch außerordentlich stark vascularisiert (CAMMERMEYER, 1945 und 1947).

Das Herz von *Helix pomatia* halten wir für die Testung kleiner Enteraminmengen für ebenso gut geeignet wie das Herz von *Venus mercenaria*, vorausgesetzt, daß keine größeren Histaminmengen in den Extrakten vorkommen; dies dürfte besonders bei Hirnextrakten nie der Fall sein. Hinzu kommt nach unseren hier nicht näher geschilderten Versuchen, daß die Herzen von Weinbergschnecken, die während des Winterschlafes bei Temperaturen unter 0°C im Freien aufbewahrt worden waren, auf Enteramin mindestens normal, wenn nicht sogar mit gesteigerter Empfindlichkeit reagierten, wogegen die Ansprechbarkeit für Acetylcholin nur noch etwa ein Tausendstel der Norm betrug. — Besonders günstig für die Enteramin-Testung ist das *Helix*-Herzpräparat im Gegensatz zu den isolierten Warmblüter-Därmen gerade auch deshalb, weil es auf Substanz P nicht anspricht. Ob dies auch für das Herz von *Venus mercenaria* gilt, ist unbekannt. Daß TWAROG u. PAGE (1953) diese Frage nicht prüften, ist bedauerlich; denn man muß bei Acetonextrakten, wie sie üblicherweise zur Enteramin-Gewinnung aus Geweben hergestellt werden, mit dem Vorkommen von Substanz P rechnen. Substanz P ist bekanntlich durchaus in Aceton löslich, falls ein geringer Wassergehalt besteht; dies jedoch dürfte bei den erwähnten Extrakten unvermeidlich sein.

Die äußerst interessante Tatsache, daß bekannte pharmakodynamische Antagonismen, wie z. B. der Histamin-Antihistamin-Antagonismus, am Schneckenherzen nicht beobachtet werden können, verdient sicher stärkere Beachtung. Auch am Herzen von *Venus mercenaria* ist Atropin gegenüber Acetylcholin wirkungslos (PROSSER 1940); die neue Substanz „Mytolon“ erwies sich hierbei jedoch als ein starker Acetylcholin-Antagonist (LUDUENA u. BROWN jr. 1952).

Schließlich sei noch erwähnt, daß FLOREY u. FLOREY (1953) Enteramin im Nervengewebe von Cephalopoden und dekapoden Crustaceen nachgewiesen haben. Sie sprachen sogar von „enteraminergen“ Nerven.

Zusammenfassung.

In Hirnextrakten konnte mit Hilfe isolierter Därme von Wirbeltieren sowie des isolierten Herzens von *Helix pomatia* Enteramin nachgewiesen werden. Substanz P ist am *Helix*herzen wirkungslos. An diesem Präparat wirkte Neo-Adtergan nicht gegenüber Histamin und Dihydroergotamin nicht gegenüber Enteramin. Ebenso wie Adrenalin war auch Nor-Adrenalin am Schneckenherz unwirksam.

Literatur.

CAMMERMEYER, J.: Norske Vid.-Akad. Skr., I.M.-N.Kl. Nr. 12 (1945). — Acta Anat. 2, 294 (1947). — J. Comp. Neur. 90, 121 (1949). — DALGLIESH, C. E., C. C. TOH and T. S. WORK: J. of Physiol. 120, 298 (1953). — ERSPAMER, V.: Arch. Int. Med. 90, 505 (1952). — Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 218, 92 (1953). — Rendi-

conti Scientifici Farmitalia Vol. I (1954). — ERSPAMER, V., and F. GHIRETTI: J. of Physiol. **115**, 470 (1951). — ERSPAMER, V., u. R. FAUSTINI: Naturwissenschaften **40**, 317 (1953). — FELDBERG, W., and C. C. TOH: J. of Physiol. **119**, 352 (1953). — FLOREY, E., u. E. FLOREY: Naturwissenschaften **40**, 413 (1953). — GADDUM, J. H.: J. of Physiol. **119**, 363 (1953). — HOLTZ, P.: Acta Physiol. Scand (Stockh.) **20**, 354 (1950). — JULLIEN, A.: Des réactions comparées des cœurs de vertébrés et d'invertébrés vis-à-vis des électrolytes et des drogues. Paris 1936. — JULLIEN, A., D. VINCENT, M. VUILLET et M. BOUCHET: J. Physiol. et. Path. gén. **37**, 562 (1939). — KOPERA, H., u. W. LAZARINI: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **219**, 214 (1953). — LUDUENA, F. P., and T. G. BROWN jr.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **105**, 232 (1952). — PERNOW, B.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **29**, Suppl. 105 (1953). — PROSSER, C. L.: Biol. Bull. (Lancaster) **78**, 92 (1940). — RAND, M., and G. REID: Nature (Lond.) **168**, 385 (1951). — Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. **29**, 401 (1951). — RAPPORT, M. M., A. A. GREEN and I. H. PAGE: J. of Biol. Chem. **174**, 735 (1948a); **176**, 1237 (1948b). — Science (Lancaster, Pa.) **108**, 329 (1948c). — REID, G.: J. of Physiol. **118**, 435 (1952). — SCHÜLLER, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **90**, 203 (1921). — TAYLOR, R. D., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **170**, 312 (1952). — TAYLOR, R. D., I. H. PAGE and A. C. CORCORAN: Arch. Int. Med. **88**, 1 (1951). — TWAROG, B. M., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **175**, 157 (1953). — VOGT, M.: Brit. J. Pharmacol. **8**, 193 (1953). — VOGT, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **220**, 365 (1953). — ZETLER, G., u. L. SCHLOSSER: Naturwissenschaften **40**, 559 (1953); **41**, 46 (1954).

Dr. G. ZETLER, Pharmacol. Inst. d. Univ. Kiel.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt/M.
(Direktor: Prof. Dr. P. HOLTZ).

Über den Mechanismus der durch K-Strophanthin verursachten Nebennieren- und Herzhypertrophie*.

Von

ALEXANDRA V. METZLER und KURT GREEFF.

(Eingegangen am 28. Januar 1954.)

Frühere Versuche mit Meerschweinchen hatten ergeben, daß länger dauernde Behandlung mit Strophanthin eine Gewichtszunahme des Herzens und der Nebennieren verursacht (A. v. METZLER, 1950). Weitere Untersuchungen, in denen es nach Verabfolgung von ACTH oder Ammoniak oder von Cortison zu einer Zunahme der Herzgewichte kam, machten es wahrscheinlich, daß zwischen der nach Strophanthin auftretenden Nebennieren- und Herzhypertrophie ein ursächlicher Zusammenhang besteht (A. v. METZLER, 1952).

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, einmal die an Meerschweinchen erhaltenen Ergebnisse an einer anderen Tierart zu reproduzieren, sodann zu untersuchen, ob die durch Strophanthin verursachte Hypertrophie der Nebennieren nur als Symptom einer mehr oder weniger unspezifischen „Stress“-Reaktion des Hypophysenvorderlappens im Sinne SELYES zu werten ist oder eine spezifische, direkt an der Nebennierenrinde angreifende Wirkung darstellt. — Als Versuchstiere haben wir deshalb Ratten genommen, deren Unempfindlichkeit gegen Digitalisglykoside zudem den Vorteil größter Variationsmöglichkeit der Dosierung bot. Um unspezifische „Stress“-Wirkungen nach Möglichkeit auszuschalten, wie sie z. B. durch die schmerzhaft subcutane Injektion von Strophanthin oder durch die Injektion hoher, toxischer Dosen ausgelöst werden könnten, haben wir Vergleichsversuche mit intravenöser Injektion und Versuche mit sehr niedrigen Strophanthindosen — bis zu 1/8000 der dosis letalis — gemacht. Versuche an hypophysektomierten und epinephrektomierten Tieren sollten die Frage nach dem Angriffspunkt der Wirkung klären.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten junge männliche Ratten von 90—120 g Körpergewicht. Die einzelnen Gruppen enthielten 5—10 Tiere. — *K-Strophanthin*-BOEHRINGER wurde in Dosierungen von 2,5—100 γ /100 g Körpergewicht injiziert. Nach

* Frau Professor HEDWIG LANGECKER, Berlin, zum 60. Geburtstag.

LENDLE entsprechen diese Dosen ungefähr $1/8000$ — $1/20$ der letalen Dosis. *Per-corten*-Ciba (2 mg/100 g) und *Cortison*-Ciba (2 mg/100 g) wurden subcutan verabfolgt. Am Ende des Versuchs wurden die Tiere getötet und Herzen und Nebennieren (feucht) gewogen. Zur Bestimmung des Trockengewichtes wurden die Herzen bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Versuche.

1. *Der Einfluß von Strophanthin auf Nebennieren- und Herzgewicht von Ratten.* Die in der Tab. 1 zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß Strophanthin auch bei Ratten zu einer signifikanten Gewichtszunahme der Nebennieren führt. Schon nach 5 tägiger Behandlung mit $100 \gamma/100 \text{ g}$ Strophanthin hat das relative Nebennierengewicht im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen um 52% zugenommen. Eine länger dauernde Behandlung (14—24 Tage) führt nicht zu einer weiteren Gewichtszunahme. Die intravenöse Applikation hat denselben Effekt wie die subcutane Verabfolgung, so daß der an sich mögliche Einwand, die Nebennierenhypertrophie sei durch den Schmerzreiz der subcutanen Injektion bedingt, ausgeschlossen werden kann.

Während die *Nebennieren* schon nach 5 tägiger Strophanthinbehandlung mit einer deutlichen Hypertrophie reagieren, ist das bei den *Herzen* nicht der Fall. Hier kommt es erst nach 14—24 tägiger Strophanthin-zufuhr, in dem Versuch mit intravenöser Applikation allerdings schon nach 7 Tagen, zu einer *signifikanten* Größenzunahme. Der Herzhypertrophie geht also die Nebennierenhyperthrophie voraus.

In der Tab. 2 sind Versuche mit sehr kleinen Strophanthindosen ($2,5$ — $10 \gamma/100 \text{ g}$) dargestellt. Auch die kleinen Dosen, die $1/2000$ bis $1/8000$ der dosis letalis betragen, führen noch zu einer Vergrößerung der Nebenniere, die allerdings für die kleinste Dosis ($2,5 \gamma$) nicht signifikant ist, andererseits — im Gegensatz zu den Versuchen mit den hohen Dosen — eine gewisse Dosisabhängigkeit zu besitzen scheint. Auffällig ist, daß das *Körpergewicht* der mit den kleinen Strophanthindosen behandelten Tiere stärker zugenommen hat als das der Kontrollen. Daraus erklärt sich, daß die relativen Herzgewichte der Strophanthintiere kleiner sind als die der Kontrollen.

2. *Versuche mit hypophysektomierten Tieren.* Wenn die durch Strophanthin verursachte Nebennierenhypertrophie, obwohl sie auch nach sehr kleinen Dosen und auch bei *intravenöser* Injektion auftritt, nur eine unspezifische „Stress“-Reaktion darstellte, so wäre anzunehmen, daß ihr in Analogie zu anderen allgemeinen „Alarmreaktionen“, wie sie z. B. durch Formalin u. a. Reize auslösbar sind, eine Ausschüttung von ACTH aus dem Hypophysenvorderlappen zugrunde läge. Strophanthin dürfte dann am hypophysektomierten Tier keinen Einfluß mehr auf die Nebennieren haben.

Tabelle I. Der Einfluß größerer Strophanthindosen (65—100 γ /100 g) bei 5—24tägiger Behandlung auf Nebennieren- und Herzgewicht von Ratten.

Behandlung	Be- hand- lungs- dauer in Tagen	Körpergewicht			Herzgewicht						Nebennierengewicht		
		zu Ende des Ver- suches g	Änderung während der Versuchs- dauer g	feucht			trocken			absolut mg	pro 100g Körper- gewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	
				absolut mg	pro 100 g Körper- gewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg	pro 100 g Körper- gewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %				
Kontrollen	24	166	+ 56	518	312 (5,6)	0	113	68	0	25	14 (0,7)	0	
65 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	24	160	+ 50	614	385 (4,3)	+ 23	130	81	+ 19	33	20 (0,5)	+ 43	
Kontrollen Aqua dest. s. c.	14	143	+ 48	472	333 (5,5)	0	99	69	0	27	19 (1,8)	+ 53	
100 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	14	139	+ 44	518	373 (10,5)	+ 12	113	81	+ 17	41	29 (1,6)		
Kontrollen Aqua dest. s. c.	5	94	— 1	366	389 (5,2)	0	82	87	0	21	23 (1,0)		
100 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	5	90	— 5	382	424 (16,0)	+ 9	92	102	+ 17	31	35 (3,2)	+ 52	
Kontrollen Aqua dest. i. v.	7	118	+ 21	401	340 (8,2)	0				20	17 (0,7)		
100 γ Strophanthin/ 100 g i. v.	7	110	+ 16	421	383 (8,4)	+ 13				31	28 (1,6)	+ 65	

In Klammern der mittlere Fehler des Mittelwertes.

Aus der Tab. 3 geht hervor, daß, wie zu erwarten, bei den jungen wachsenden Tieren die Hypophysektomie an sich ein Sistieren der Körpergewichts- und Herzgewichtszunahme zur Folge hat und zu einer Atrophie der Nebennieren (—44%) führt. Die Behandlung der hypophysektomierten Tiere mit 10 γ /100 g Strophanthin verhindert nun nicht nur völlig die Atrophie der Nebennieren, sondern verursacht sogar eine Zunahme des relativen Nebennierengewichtes um 26%. Diese Stimulierung der Nebennierenrinde wirkt sich dann auch fördernd auf die Herzgewichte aus, so daß diese bei den Strophanthintieren signifikant höher liegen als bei den hypophysektomierten Kontrollen. Die durch Strophanthin verursachte Hypertrophie der Nebennieren kommt demnach zumindest nicht *nur* auf *indirektem* Wege, über eine Aktivierung des H.V.L. zustande, sondern scheint durch einen *direkten*, spezifischen Angriff an der Nebennierenrinde selbst zu erfolgen.

3. Versuche mit Cortison und Desoxycorticosteronacetat. Es ist anzunehmen, daß die durch Strophanthin bedingte Nebennierenhypertrophie mit einer ver-

Tabelle 2. Der Einfluß kleiner Strophanthindosen bei 14tägiger Behandlung auf Nebennieren- und Herzgewicht von Ratten.

Behandlung	Körpergewicht		Herzgewicht						Nebennierengewicht		
	zu Ende des Versuches g	Änderung während der Versuchsdauer g.	feucht			trocken			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %
			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %			
Kontrollen	127	+ 37	515	405 (9,9)	0	116	91	0	26	20 (0,7)	0
2,5 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	148	+ 58	530	358 (10,0)	— 11	121	81	— 11	33	23 (2,2)	+ 15
5 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	155	+ 65	557	360 (5,2)	— 11	126	81	— 11	39	24 (1,1)	+ 20
10 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	142	+ 52	532	374 (9,9)	— 8	122	86	— 5	38	26 (2,1)	+ 30

In Klammern der mittlere Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 3. Der Einfluß von 10 γ Strophanthin/100 g bei 15 tägiger Behandlung auf Nebennieren- und Herzgewicht von hypophysektomierten Ratten.

Behandlung	Körpergewicht		Herzgewicht						Nebennierengewicht					
	zu Ende des Versuches g	Änderung während der Versuchsdauer g	feucht			trocken			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %
			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %						
Kontrollen	143	+ 33	472	330 (5,1)	0	99	69	0	27	19 (1,9)	0			
Hypophysektomie	111	+ 1	381	342 (18,1)	+ 3	76	70	+ 1	12	11 (0,7)	- 44			
Hypophysektomie + 10 γ Strophanthin/100 g s. c.	109	- 1	420	382 (12,6)	+ 16	83	76	+ 10	27	24 (2,0)	+ 26			

In Klammern der mittlere Fehler des Mittelwertes.

mehrten Abgabe von *Corticoiden* verbunden ist. Zur Klärung der Frage, welches Nebennierenrindenhormon für die beobachtete Herzhypertrophie verantwortlich zu machen ist, haben wir eine weitere Versuchsserie angesetzt, in der wir verschiedene Tiergruppen mit den beiden wichtigsten Vertretern der Mineralo- bzw. Glucocorticoide, *DOCA* bzw. *Cortison* behandelten.

Die Tab. 4 zeigt, daß beide Hormone in der absichtlich sehr hoch gewählten Dosierung — durch funktionelle Hemmung des H.V.L. — schon während der kurzen Behandlungsperiode von 5 Tagen zu einer deutlichen Nebennierenatrophie führen. Während *Desoxycorticosteron* die Herzgewichte völlig unbeeinflusst läßt, kommt es nach *Cortison* zu einer sehr starken Zunahme der Herzgewichte: die relativen Herzgewichte der Cortisontiere liegen um 30% höher als die der unbehandelten Kontrollen und der mit *DOCA* behandelten Tiere. — Die nach Strophanthin auftretende Herzhypertrophie würde sich demnach durch eine vermehrte Ausschüttung von Cortison erklären lassen.

4. Versuche an epinephrektomierten Tieren. Wenn

die bisher mitgeteilten Versuche es auch sehr wahrscheinlich machen konnten, daß an dem zu Herzhypertrophie führenden Mechanismus der Strophanthinwirkung eine durch Strophanthin bedingte vermehrte Abgabe von Glucocorticoiden aus der Nebennierenrinde maßgeblich beteiligt ist, so lassen sie nicht zu, eine daneben vielleicht noch vorhandene, direkt am Herzen angreifende Wirkung des Strophanthins auszuschließen. Wir haben deshalb Versuche an *epinephrektomierten* Tieren gemacht.

Die Tab. 5 zeigt Versuchsergebnisse, die an 6 von 17 nebennierenlosen Tieren erhalten wurden, die die Epinephrektomie überlebten und 24 Tage lang mit Strophanthin behandelt werden konnten. Während die nicht operierten Tiere erwartungsgemäß auf Strophanthin mit deutlicher Nebennieren- und Herzhypertrophie reagierten, ließ die langdauernde Strophanthinbehandlung der epinephrektomierten Tiere die Herzgewichte völlig unbeeinflusst. Hieraus darf gefolgert werden, daß für das Zustandekommen der Herzhypertrophie nach Strophanthin die Mitwirkung von Rindenhormonen, insbesondere Cortison, Voraussetzung ist.

Tabelle 4. Der Einfluß größerer Dosen von *Desoxycorticosteronacetat* oder *Cortison* (2 mg/100 g) bei 5-tägiger Behandlung auf Nebennieren- und Herzgewicht von Ratten.

Behandlung	Körpergewicht		Herzgewicht						Nebennierengewicht	
	zu Ende des Versuches g	Änderung während der Versuchsdauer g	feucht		Differenz gegenüber Kontrollen in %	trocken		absolut	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %
			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg		absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg			
Kontrollen	122	+ 11	429	352 (15,1)	0	99	81	27	23 (3,2)	0
2 mg DOCA/100 g s. c.	124	+ 12	435	350 (15,3)	0	100	80	23	18 (0,6)	- 22
2 mg Cortison/100 g s. c.	107	- 2	477	446 (11,5)	+ 27	113	106	13	12 (1,4)	- 48

In Klammern der mittlere Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 5. Der Einfluß größerer Strophanthindosen (65 γ /100 g) bei 24tägiger Behandlung auf das Herzgewicht von epinephrektomierten Ratten.

Behandlung	Körpergewicht		Herzgewicht						Nebennierengewicht				
	zu Ende des Versuches g	Änderung während der Versuchsdauer g	feucht		trocken		absolut mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %		
			absolut mg	pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %	absolut mg						pro 100 g Körpergewicht mg	Differenz gegenüber Kontrollen in %
Kontrollen	166	+ 56	518	312 (5,6)	0	113	68	0	25	14 (0,7)	0		
65 γ Strophanthin/ 100 g s. c.	160	+ 50	614	385 (4,3)	+ 23	130	81	+ 19	33	20 (0,5)	+ 43		
Epinephrektomie + 65 γ Strophanthin	161	+ 51	525	326 (12,3)	+ 4	108	67	— 1	—	—	—		

In Klammern der mittlere Fehler des Mittelwertes.

Bemerkungen
zu den Ergebnissen.

Schon vor längerer Zeit ist von verschiedenen Autoren auf Beziehungen zwischen bestimmten Wirkungen des Strophanthins und der Wirkung der Nebennierenrindenhormone hingewiesen worden (ZWEMER, 1940; VARGA u. a., 1949). In den Versuchen dieser Autoren verursachten hohe Strophanthindosen ähnlich wie Nebennierenrindenextrakte im Blut einen Anstieg des Natrium- und ein Absinken des Kaliumspiegels und im Harn spiegelbildliche Verschiebungen. Diese Strophanthinwirkung wurde deshalb als „cortinähnlich“ bezeichnet. — Demgegenüber sprechen die Ergebnisse unserer Versuche dafür, daß es sich wie bei der von uns nach Strophanthin beobachteten Herzhypertrophie so vielleicht auch bei der von den erwähnten Autoren festgestellten Beeinflussung des Mineralstoffwechsels nicht um eine direkte Strophanthinwirkung handelt, die als „cortinähnlich“ zu kennzeichnen wäre, sondern um eine indirekte Wirkung, indem Strophanthin — „ACTH-ähnlich“ — zu einer Nebennierenhypertrophie führt, die auch an hypophysenlosen Tieren auftritt und der Herzhypertrophie zeitlich vorausgeht. Wenn

man annehmen darf, daß der Nebennierenhypertrophie eine vermehrte Produktion und Abgabe von Rindenhormon entspricht, so wären die auftretenden Wirkungen keine eigentlichen Strophanthinwirkungen, sondern Wirkungen von Corticoiden, die unter dem Einfluß des Strophanthins vermehrt sezerniert wurden.

Zusammenfassung.

1. K-Strophanthin verursacht in Dosierungen von 2,5—100 γ /100 g Körpergewicht (1/8000—1/20 der dosis letalis) bei Ratten schon nach 5tägiger Behandlung eine signifikante Gewichtszunahme der Nebennieren. Bei länger dauernder Behandlung (14—24 Tage) mit 65 bis 100 γ /100 g Strophanthin kommt es neben der Hypertrophie der Nebennieren auch zu einer Gewichtszunahme der Herzen.

2. Am hypophysektomierten Tier verhindert Strophanthin (10 γ /100 g) nicht nur die sonst auftretende Nebennierenatrophie, sondern führt zu einem Anstieg des relativen Nebennierengewichtes. Die Wirkung des Strophanthins auf die Nebenniere erfolgt also nicht über den Hypophysenvorderlappen.

3. Vergleichende Versuche mit Cortison und DOCA sprechen dafür, daß an der durch Strophanthin verursachten Herzhypertrophie eine vermehrte Abgabe von Glucocorticoiden wesentlich beteiligt ist.

4. An epinephrektomierten Tieren bleibt die nach Strophanthin sonst auftretende Herzhypertrophie auch bei langdauernder Behandlung (24 Tage) völlig aus. Für ihr Zustandekommen scheint deshalb die Mitwirkung von Corticoiden unabdingbare Voraussetzung zu sein.

Fräulein GISELA THIELECKE danken wir für ihre Mitarbeit.

Literatur.

LENDLE, L., u. D. OLDENBURG: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **211**, 243 (1950). — METZLER, A. v.: Arch. Kreislaufforsch. **17**, 56 (1950); **18**, 359 (1952). — VARGA, E., D. BAGDY u. L. KESZTYÜS: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **207**, 29 (1949). — ZWEMER, R. L., u. Mitarb.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **27**, 945 (1940). — Science (Lancaster, Pa.) **91**, 75, 600 (1940).

Dr. ALEXANDRA V. METZLER u. Privatdozent Dr. KURT GREEFF,
Pharmakol. Institut der Universität Frankfurt/Main.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Karl-Marx-Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. F. HAUSCHILD).

Zur Wirkungssteigerung von Succinyl-bis-cholin und Dekamethonium durch Cholin.

Von

G. OSTERLOH.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Dezember 1953.)

An der dekapitierten Katze fand HUTTER, daß kleine Cholinmengen die Kontraktionen des *Musc. tibialis ant.* bei indirekter Reizung verstärken. Größere Cholingaben führten zu einer Blockade der neuromuskulären Übertragung. Bei Vorbehandlung mit d-Tubocurarin hatten 3 mg/kg Cholin einen ausgesprochenen decurarisierenden Effekt zur Folge. Cholindosen, die bei 20 mg/kg lagen, bewirkten stets eine Durchbrechung des d-Tubocurarin-Blockes. Es besteht daher ein Antagonismus zwischen Cholin und d-Tubocurarin. Auf Grund dieser Versuche von HUTTER ist anzunehmen, daß die Blockade der neuromuskulären Übertragung durch Cholin auf einer Depolarisation an der motorischen Endplatte beruht. Dabei soll Cholin die Acetylcholin-Bildung an der motorischen Nervenendigung fördern.

Cholin besitzt somit gleiche Angriffspunkte wie die Muskelrelaxantien der Dekamethoniumreihe, die durch Dauerdepolarisation an der Endplattenmembran nach anfänglicher Erregung eine schlaffe Muskellähmung hervorrufen.

Da bei Anwendung von Cholin und eines Vertreters der Dekamethoniumgruppe eine gegenseitige Verstärkung der peripheren Wirkungen zu erwarten ist, sollte in der vorliegenden Mitteilung der Nachweis einer Wirkungssteigerung von Succinyl-bis-cholin bzw. von Dekamethonium durch Cholin erbracht werden.

Methodik.

Es wurden insgesamt 12 Versuche an Katzen (7 in Chloralose-Urethan-Narkose, 5 an der dekapitierten Katze) und 3 Versuche an Hunden (Pernocton-Narkose) durchgeführt. Registrierung des Carotis-Blutdruckes in üblicher Weise; in einigen Versuchen Atemregistrierung über Trachealkanüle und MAREYSche Kapsel. Präparation des N. ischiadicus und Durchschneidung desselben an der Eintrittsstelle in die Oberschenkelmuskulatur. Nach Durchtrennung des N. fibularis in der Kniebeuge erfolgte die elektr. Reizung des Ischiadicusstumpfes über eine Elektrode nach SHERRINGTON durch Kondensatorentladungen (8—10 Einzelreize/min). Registrierung der Kontraktionen des *Musc. gastrocnemius* über 2 gekoppelte MAREYSche Kapseln.

Zur Anwendung gelangten Einzelinjektionen mit Cholinchlorid. Die Muskelrelaxantien Succinyl-bis-cholinbromid (SCH-Br), Dekamethoniumbromid (C 10-Br) und d-Tubocurarinchlorid(d-TC-Cl) wurden als intravenöse Dauerinfusionen appliziert.

Ergebnisse.

a) *Succinyl-bis-cholin*. Bei orientierenden Versuchen an Katzen führte die intravenöse Dauerinfusion mit 0,0375 mg/kg/min SCH-Br nach 17 min 40 sec bzw. 15 min 30 sec zum völligen Atemstillstand. Wurde dagegen *vor* Beginn der SCH-Br-Infusion Cholinchlorid in einer Dosierung von 1 mg/kg intravenös injiziert, so kam es bereits nach 6 min 20 sec bzw. 3 min 15 sec zum Sistieren der Atmung. Die in einem Versuch

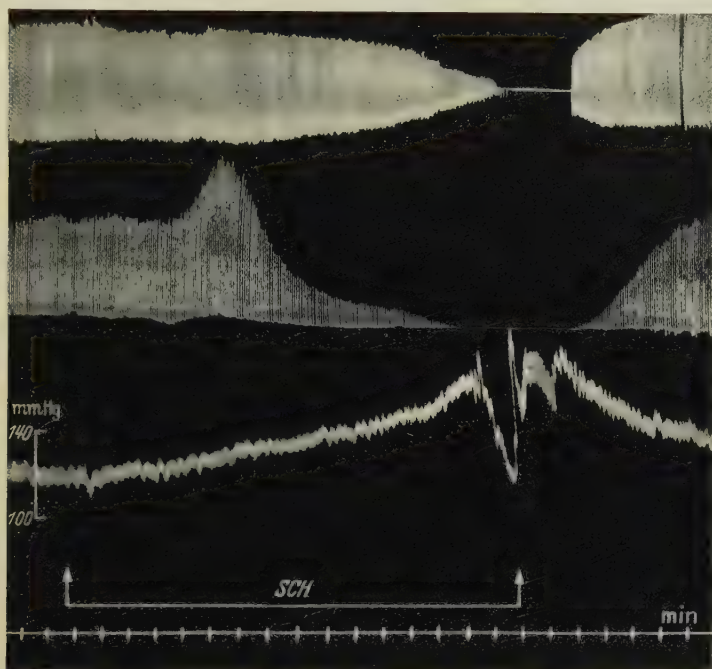
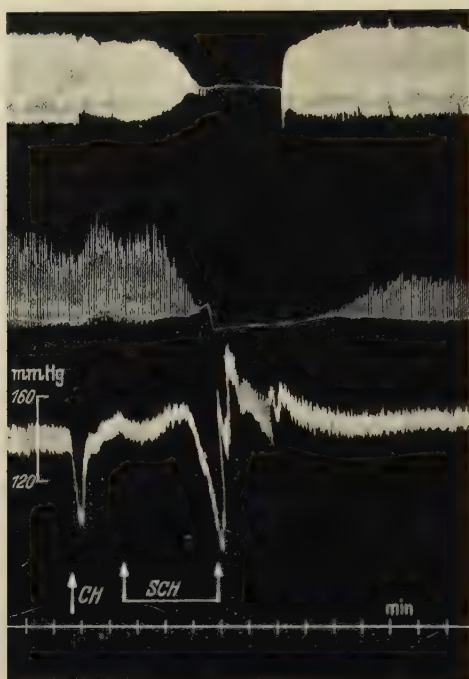


Abb. 1a. Katze (Chloralose-Urethan). Succinyl-bis-cholinbromid-Dauerinfusion (SCH = 0,0375 mg/kg/min) bis zum Atemstillstand = 15 min 30 sec. (Oben = Atmung, darunter = Gastrocn. Kontr., darunter = Blutdruck.)

gleichzeitig registrierten Gastrocnemiuskontraktionen ließen bei der SCH-Br-Infusion allein nach 13 min 30 sec, bei Vorbehandlung mit Cholinchlorid bereits nach 2 min 30 sec eine völlige Blockade der neuromuskulären Übertragung erkennen (s. Abb. 1a u. b). — Dieses Verhalten, das sich am gleichen Tier mehrmals reproduzieren ließ, war jedoch in späteren Versuchen nicht wieder so deutlich nachweisbar.

In allen anderen Versuchen an Katzen und Hunden kam Cholinchlorid *während* der Dauerinfusion von SCH-Br zur Anwendung. Wurden hier die Gastrocnemiuskontraktionen bei indirekter Reizung durch intravenöse Injektionen von 1—4 mg/kg Cholinchlorid nicht oder nur ganz



gering gehemmt, so trat im Verlauf der SCH-Br-Dauerinfusion von 0,008—0,015 mg/kg/min nach Cholinchlorid-Gaben eine sofortige und deutliche Hemmung der Muskelkontraktionen ein (s. Abb. 2). — 2 Versuche, bei denen außer den Gastrocnemiuskontraktionen noch die Atmung registriert wurde, ergaben ebenfalls eine Verstärkung des SCH-Br-

Abb. 1b. Katze (Chloralose-Urethan). Vorbehandlung mit Cholinchlorid (CH = 1 mg/kg), anschließend Succinyl-bis-cholinbromid-Dauerinfusion (SCH = 0,0375 mg/kg/min) bis zum Atemstillstand = 3 min 15 sec. (Oben = Atmung, darunter = Gastrocn. Kontr., darunter = Blutdruck.)

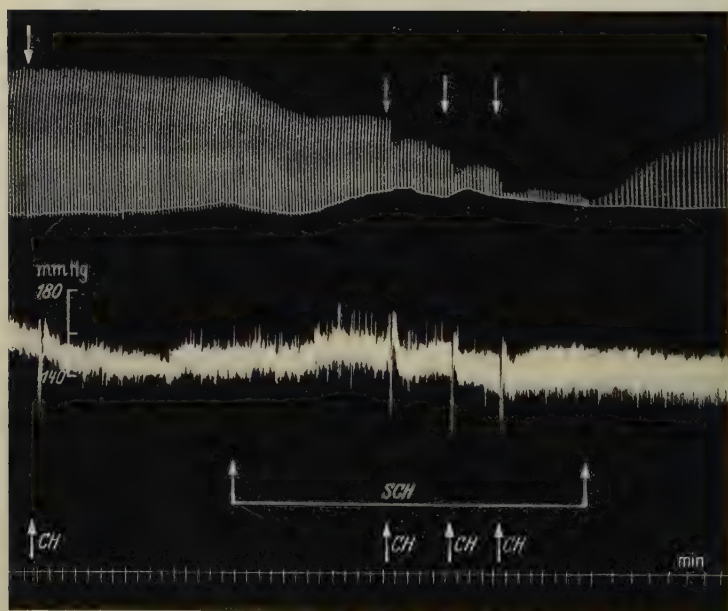


Abb. 2. Hund (Pernocton). Cholinchlorid (CH = 2 mg/kg) vor und während der Succinyl-bis-cholinbromid-Dauerinfusion (SCH = 0,013 mg/kg/min): Wirkung auf Gastrocnemiuskontraktionen (oben).

Effektes durch Cholin. Die Injektionen von Cholinchlorid (2—4 mg/kg) erfolgten in diesen Versuchen, nachdem es unter der Dauerinfusion von 0,015—0,0375 mg/kg/min SCH-Br bereits zu einem völligen Block der Gastrocnemiuskontraktionen gekommen war. Cholin bewirkte jedesmal eine starke Abnahme bzw. einen Stillstand der Spontanatmung, so daß künstlich beatmet werden mußte (s. Abb. 3).

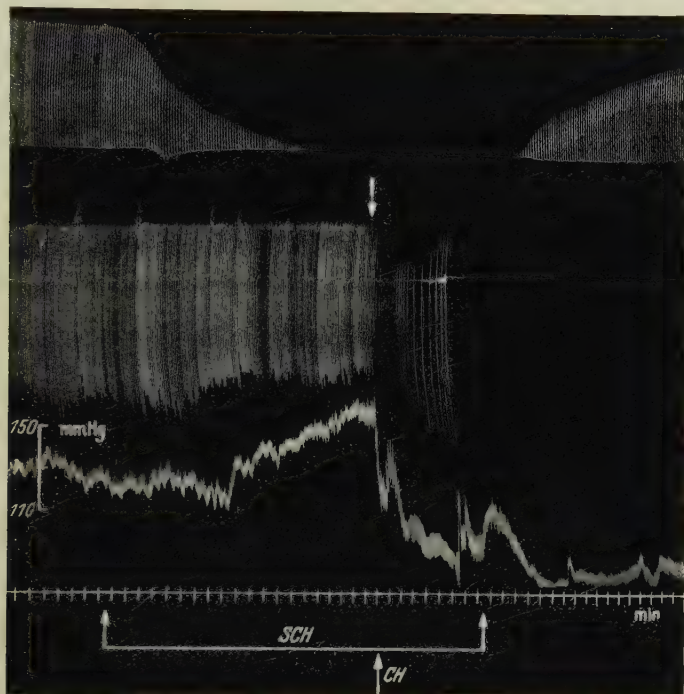


Abb. 3. Katze (Chloralose-Urethan). Cholinchlorid (CH = 4 mg/kg) während der Succinyl-bis-cholinbromid-Dauerinfusion (0,015 mg/kg/min): Wirkung auf Gastrocnemiuskontraktionen (oben) und Atmung (darunter).

b) *Dekamethonium*. Die Dosierung von C 10-Br wurde an der dekapierten Katze so gewählt, daß bei einer Dauerinfusion von 0,00075 bis 0,00113 mg/kg/min erst in 85—100 min eine Abnahme der Gastrocnemiuskontraktionen bei Ischiadicus-Reizung um etwa 70% eintrat. Wurde während der C 10-Br-Dauerinfusion Cholinchlorid injiziert, so verursachte dieses in einer Dosierung von 4 mg/kg eine sofortige, weitere Hemmung der Muskelkontraktionen bis zu durchschnittlich 90% der Ausgangshöhe (s. Abb. 4). Die zum Vergleich allein gegebene Cholinchlorid-Dosis hatte auch hier lediglich eine Hemmung von maximal 15% zur Folge.

c) *d*-Tubocurarin. Abschließend wurde in Anlehnung an die Untersuchungen von HUTTER die Wirkung von Cholin auf die intravenöse Dauerinfusion von *d*-Tubocurarin an der dekapitierten Katze geprüft.

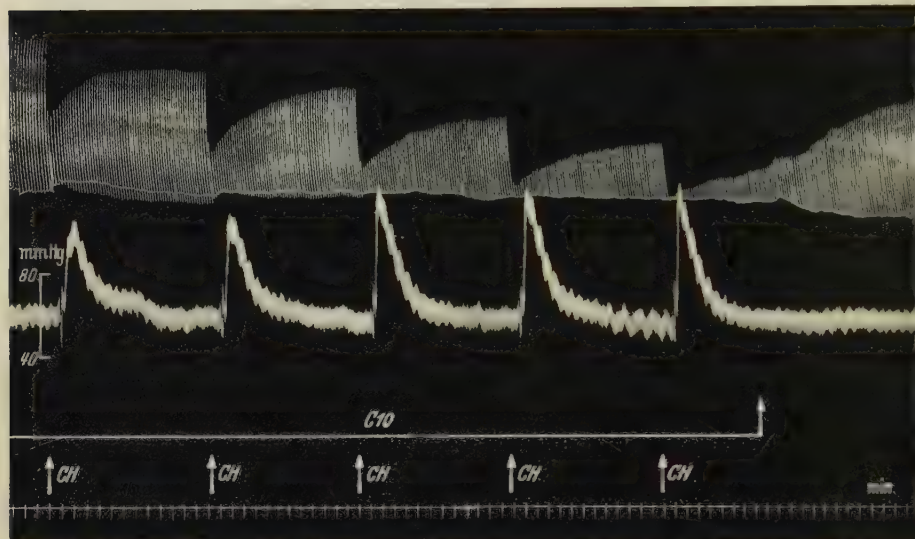


Abb. 4. Katze (dekapiert). Cholinchlorid (CH = 4 mg/kg) während der Dauerinfusion mit Dekamethoniumbromid (C 10 = 0,00113 mg/kg/min). Registrierung der Gastrocn.Kontr. (oben).

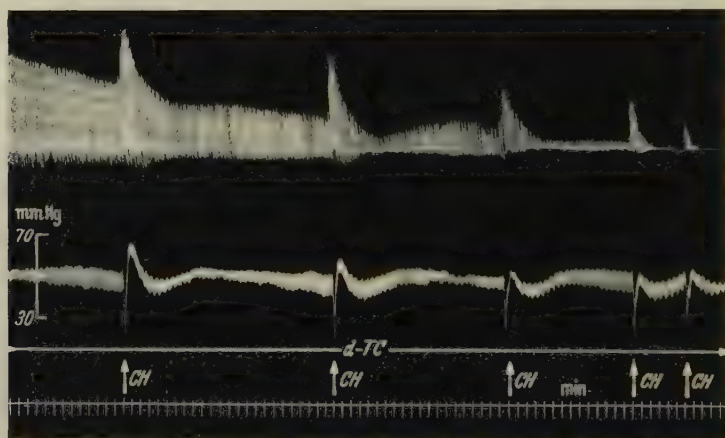


Abb. 5. Katze (dekapiert). Beeinflussung der Gastrocn.Kontr. (oben) durch Cholinchlorid (CH = 8 mg/kg) während der Dauerinfusion mit *d*-Tubocurarinchlorid (d-TC = 0,0015 mg/kg/min). Curarisierung zu Anfang der Kurve etwa 40%.

Bei der Infusion von 0,0015 mg/kg/min *d*-TC-Cl erfolgte die Blockade der neuromuskulären Übertragung, wie in den vorhergehenden Versuchen mit C 10-Br, ganz allmählich. Eine vollständige Curarisierung

der Gastrocnemiuskontraktionen war erst nach einer Infusionsdauer von etwa 100 min erreicht. — Als im Anfang die kleine d-TC-Cl-Menge noch nicht zu einer sichtbaren Beeinflussung der Gastrocnemiuskontraktionen bei indirekter Reizung geführt hatte, wurde die blockierende Wirkung von 4—8 mg/kg Cholinchlorid, welche in Kontrollen maximal 30% betrug, völlig aufgehoben. Im weiteren Verlauf der Dauerinfusion kam es mit zunehmender Curarisierung im Anschluß an Injektionen von Cholinchlorid jedesmal zu einer deutlichen Zunahme der Kontraktionshöhe. Diese war so beträchtlich, daß bei 50%iger Curarisierung die Ausgangshöhe wieder erreicht wurde. Die Durchbrechung des Curare-Blockes durch 8 mg/kg Cholinchlorid zeigte sich auch dann noch, als unter der d-TC-Cl-Dauerinfusion eine totale Hemmung der Kontraktionen bei indirekter Muskelreizung eingetreten war (s. Abb. 5).

Besprechung der Ergebnisse.

In Versuchen an Katzen und Hunden verursachte Cholin bei Anwendung vor oder während einer Succinyl-bis-cholin-Dauerinfusion eine deutliche Verstärkung des SCH-Br-Effektes. Nach Cholin-Gaben zeigte sich eine weitere Herabsetzung der indirekten Erregbarkeit des Musc. gastrocnemius, der Atemstillstand trat wesentlich früher ein.

Da Succinyl-bis-cholin nach Ansicht vieler Autoren (CASTILLO und DE BEER, FOLDES u. a.; HALL, LEHMANN und SILK; EVANS, GRAY und LEHMANN) durch die Cholinesterasen (Plasma-Cholinesterase und Acetylcholin-Esterase) im Organismus rasch in Cholin und Bernsteinsäure gespalten wird, könnte es sich hierbei um eine kompetitive Hemmung der Cholinesterasen durch Cholin handeln, wie sie an der Acetylcholin-Spaltung von AUGUSTINSSON und anderen nachgewiesen wurde. —

Bei der Dauerinfusion mit Dekamethonium kam es jedoch nach Cholin-Gaben am indirekt gereizten Gastrocnemius-Muskel der dekapitierten Katze ebenfalls zu einer eindeutigen Verstärkung der neuromuskulär blockierenden Wirkung von C 10. Eine Beeinflussung enzymatischer Abbauvorgänge kann aber bei diesem Muskelrelaxans keine Rolle spielen, zumal Dekamethonium größtenteils unverändert vom Organismus wieder ausgeschieden wird (FOLDES u. a.).

Nach den Untersuchungen von GLICK; GINZEL u. Mitarb. sowie von LÜLLMANN u. FÖRSTER ist die Spaltung von Succinyl-bis-cholin durch die Cholinesterasen nur von untergeordneter Bedeutung und der Succinyl-bis-cholin-Abbau erfolgt vielmehr zum überwiegenden Teil durch Spontanhydrolyse.

Aus diesen Gründen ist anzunehmen, daß es sich bei der beobachteten Wirkungssteigerung von Succinyl-bis-cholin bzw. Dekamethonium durch Cholin um eine gegenseitige Verstärkung der neuromuskulär blockierenden Wirkungen handelt. Für einen solchen Wirkungsmechanismus sprechen auch die Ergebnisse der Versuche mit d-Tubocurarin und Cholin. In Übereinstimmung mit den Befunden von HUTTER ergab sich an der dekapitierten Katze ein Antagonismus von d-Tubocurarin und Cholin,

der dadurch zustande kommen dürfte, daß Cholin die Acetylcholin-Freisetzung an der motorischen Endplatte fördert und auf diese Weise zu einer Durchbrechung des Curare-Blockes führt.

Zusammenfassung.

In Versuchen an Katzen und Hunden wurde die Beeinflussung neuromuskulär blockierender Substanzen (Succinyl-bis-cholinchlorid, Dekamethoniumbromid, d-Tubocurarinchlorid) durch Cholin (Cholinchlorid) untersucht:

a) Wurde Cholin vor oder während der Dauerinfusion von Succinyl-bis-cholin gegeben, so war stets eine verstärkte Lähmung der indirekten Erregbarkeit des *Musc. gastrocnemius* zu beobachten, und es kam zu einer deutlichen Abnahme der Atembewegungen bzw. zum Atemstillstand.

b) Während der Dauerinfusion mit Dekamethonium zeigte sich wie bei Succinyl-bis-cholin nach Cholin-Gaben eine weitere Hemmung der Gastrocnemiuskontraktionen bei indirekter Reizung.

c) Bei einer Dauerinfusion mit d-Tubocurarin führten kleine Curare-Mengen zu einer Aufhebung der neuromuskulär lähmenden Wirkung von Cholin. Mit zunehmender Curarisierung verursachte Cholin eine Verstärkung der Muskelkontraktionen. Es kam also durch Cholin zu einer vorübergehenden Wiederherstellung der neuromuskulären Übertragung.

Die Wirkung von Cholin auf die untersuchten Muskelrelaxantien wird als eine Beeinflussung peripherer Vorgänge an der motorischen Nerv-Muskelverbindung angesehen.

Das unterschiedliche Verhalten von Cholin gegenüber Substanzen des Dekamethonium- oder Curare-artigen Wirkungstypus erlaubt eine einfache Differenzierung von Muskelrelaxantien.

Literatur.

CASTILLO, J. C., and E. J. DE BEER: *J. of Pharmacol.* **99**, 458 (1950). — EVANS, F. T., P. W. S. GRAY and H. LEHMANN: *Brit. Med. J.* **1**, 136 (1953). — FOLDES, F. F., P. G. McNALL and J. M. BORREGO-HINOJOSA: *New England J. Med.* **247**, 596 (1952). — FOLDES, F. F., T. S. MACHAJ, R. D. HUNT, P. F. McNALL and P. L. CARBERRY: *J. Amer. Med. Assoc.* **150**, 1559 (1952). — GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: *Arch. internat. Pharmacodynamie* **87**, 351 (1951). — GLICK, D.: *J. of Biol. Chem.* **137**, 357 (1941). — HALL, L. W., H. LEHMANN and E. SILK: *Brit. Med. J.* **1**, 134 (1953). — HUTTER, O. F.: *J. of Physiol.* **117**, 241 (1952). — LÜLLMANN, H., u. W. FÖRSTER: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **217**, 217 (1953). — SHERRINGTON, C. S.: zit. nach THER, L.: *Pharmakologische Methoden*. Stuttgart: Wiss. Verlagsgesellschaft m. b. H. 1949.

Dr. G. OSTERLOH, Leipzig/Sa., Pharmakol. Inst. d. Karl-Marx-Universität.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. W. NEUMANN).

Beiträge zur Charakterisierung der Wirkstoffe des Bienengiftes.

Von
WILHELM NEUMANN und ERNST HABERMANN.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1954.)

Die pharmakologische Wirkung des Bienengiftes und ebenso seine nähere Zusammensetzung ist noch keineswegs geklärt. Das als pharmakologisch bedeutsamer Bestandteil nachgewiesene Histamin (NAGAMITU, REINERT; TETSCH u. WOLFF, ACKERMANN u. MAUER) ist sicher nur zum kleinen Teil für die Wirkungen des Giftes verantwortlich.

Eine Isolierung der wirksamen Komponenten versuchte erstmals LANGER. Er trennte mit Ammoniak eine Fraktion ab, die er als eiweißfreie Base ansah, da sie keine Biuretreaktion mehr gab, aber durch Alkaloidreagenzien fällbar war. FLURY erkannte den auffallend hohen Tryptophangehalt des Giftes, beobachtete, daß Pepsin und Pankreasferment Bienengift spalteten und daß das wirksame Prinzip nicht dialysabel war, hielt aber gleichzeitig eine aktive Komponente für stickstofffrei. REINERT gewann durch Alkoholfällung ein gereinigtes Gift, dessen wesentlichen Bestandteil er als Proteose bezeichnete; außerdem machte er das Vorliegen von Histamin sehr wahrscheinlich. TETSCH und WOLFF fällten eine toxische Fraktion mit Pikrinsäure; im Rückstand fanden sie Histamin. HAHN und Mitarbeiter versuchten unter anderem durch langdauernde Dialyse zwei wirksame Komponenten des Giftes zu trennen, die aber, nach der relativ geringen Toxizität zu urteilen, wohl ebenso wie das Ausgangsmaterial recht unrein oder größtenteils zersetzt waren. HAVEMANN und WOLFF bestimmten kataphoretisch den isoelektrischen Punkt eines nach TETSCH und WOLFF gewonnenen Präparates, ohne aber zu klären, ob eine einheitliche Substanz vorlag. LAUTER und GRIGGS arbeiteten mit Acetonfällung.

Obwohl durch Arbeiten von REINERT sowie TETSCH u. WOLFF feststeht, daß Bienengift eiweißartige Substanz enthält, war doch zu Beginn unserer Untersuchungen noch nicht bekannt, ob der wirksame Teil des Giftes — vom Histamin abgesehen — einheitlich ist oder aus einer Vielzahl von Eiweißkörpern besteht. Verfrüht ist die bisherige Diskussion über Molekulargewichte (HAVEMANN u. WOLFF, FASSBENDER), widersprechend sind die Angaben bezüglich der Dialysierbarkeit (FLURY, RICHTER; HAHN u. Mitarb., HAVEMANN u. WOLFF, FASSBENDER) und des Schwefelgehaltes (REINERT; TETSCH u. WOLFF, LAUTER u. GRIGGS).

Bei der Deutung und Einordnung der früheren Befunde besteht eine wesentliche Schwierigkeit darin, daß die meisten Autoren sich damit begnügen, die Toxizität oder nur eine oder einige wenige der pharmakologischen Eigenschaften ihrer Präparate zu prüfen. Auf diese Weise ist

aber nicht zu erkennen, ob und wann sich unter der Aufarbeitung ein bestimmter Effekt von den übrigen trennt, zumal man bisher bei den Versuchen zur Fraktionierung von Bienengift seine zum Teil schon lange bekannten fermentativen Wirkungen (vgl. weiter unten) außer acht gelassen hat.

Wie wir an anderer Stelle kurz berichtet haben (NEUMANN, HABERMANN u. AMEND), gelingt es durch Papierelektrophorese, vorgereinigtes Bienengift in mindestens 2 Komponenten aufzutrennen, die sich in ihren pharmakologischen und biochemischen Wirkungen eindeutig unterscheiden.

I. Papierelektrophorese von sogen. Bienen-Pikratgift.

A. Allgemeines.

Wir verwenden Giftpräparate, die durch Fällung mit Pikrinsäure (TETSCH und WOLFF) gereinigt sind und die wir der Firma H. Mack Nachf., Illertissen, verdanken. Eine 10%ige Lösung mit 0,9% Kochsalz wird jeden zweiten Tag frisch bereitete und im Eisschrank aufbewahrt. Auf 4 cm breite, mit Puffer getränkte Streifen von WHATMAN I-Papier bringen wir 0,007 ml = 0,7 mg Gift, auf 9 cm breite Streifen von WHATMAN I oder Schleicher & Schüll 2043 b 0,016 ml = 1,6 mg Gift. Der Startpunkt liegt zur Vermeidung von „Docht“-Effekten in der Nähe der Streifenmitte. Teils wird im Eisschrank, teils bei Zimmertemperatur gearbeitet bei Laufzeiten von 30 min bis 24 Std. Veronal-, Phosphat-, Acetat- und Glycin-HCl-Puffer (Ionenstärke 0,1 und 0,2; p_H 2, 4, 6, 7, 8 und 10) werden nach der Tabelle von MILLER und GOLDER hergestellt. Im übrigen entsprechen Elektrophoresekammern, Ausführung der Elektrophorese, Färbung mit Amidoschwarz und Auswertung den Angaben von GRASSMANN und HANNIG.

Aus Bienen-„Pikratgift“ erhält man bei der Papierelektrophorese bei p_H 6—8 und 110 Volt (4 Volt/cm) 3 kathodenwärts wandernde Fraktionen (Abb. 1). Die schnellste (F 0) ist sehr schwach und unter diesen Bedingungen von der folgenden, viel stärkeren Fraktion I¹ (F I) nur schwer abzutrennen. Auf diese folgt eine schwächere Fraktion II¹ (F II). Färbt man nach GRASSMANN mit Amidoschwarz und wertet photometrisch-planimetrisch aus, so verhalten sich die von den einzelnen Fraktionen gebundenen Farbmengen etwa wie 1:16:5 (Mittelwerte aus 3 Bestimmungen; Abb. 1). Bereits bei neutralem p_H neigt Fraktion I stark zur Schwanzbildung, so daß Fraktion II nicht leicht sauber abzutrennen ist. Im stärker Säuren und stärker Alkalischen ist die Trennung von F I und F II unscharf; im Säuren wandert aber (Abb. 2; Glycin-Salzsäure-Puffer nach MILLER u. GOLDER, p_H 2, Ionenstärke 0,1) F 0 aus dem bei diesem p_H gemeinsam laufenden Flecken von F I und II heraus. Die Auswertung nach GRASSMANN ergibt ein Verhältnis der Farbstoffbindung von etwa 1:10 (Mittelwert aus 4 Bestimmungen). Die relativ

¹ Für die beiden Hauptfraktionen behalten wir zunächst die in der ersten Mitteilung gebrauchte Bezeichnung bei.

höhere Extinktion der bei p_H 2 abgetrennten F 0 dürfte darauf beruhen, daß F 0 sich bei p_H 7 unter unseren Bedingungen nur teilweise von F I trennt, so daß ein „Schwanz“ bei F I mitgemessen wird. Fraktion I wandert auch bei p_H 10 noch zur Kathode, was schon auf ihren stark basischen Charakter hinweist.

Um Anhaltspunkte für die Zusammensetzung der Fraktionen zu erhalten, führten wir einige Färbungen aus.

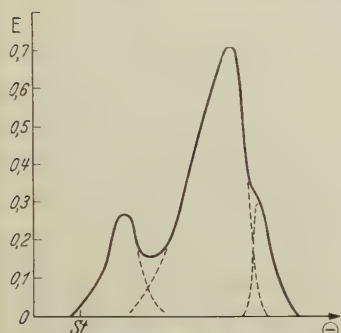


Abb. 1.

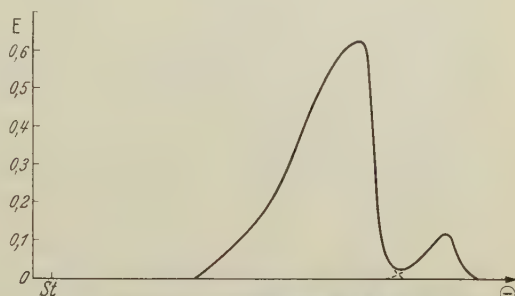


Abb. 2.

Abb. 1. Papierelektrophorese von 0,7 mg Bienen-Pikratgift. 4 V/cm, 19° C, Phosphatpuffer p_H 7,0, Ionenstärke 0,1, 5 Std Laufzeit, WHATMAN I-Papier. St Startlinie. Färbung mit Amidoschwarz und Auswertung nach GRASSMANN u. HANNIG. Ordinate: Extinktion. Abszisse: zurückgelegte Wegstrecke.

Abb. 2. Papierelektrophorese von 0,7 mg Bienen-Pikratgift. 4 V/cm, 18° C, Glykokoll-Salzsäurepuffer p_H 2,0, Ionenstärke 0,1, 4 Std Laufzeit, WHATMAN I-Papier. Färbung und Auswertung wie Abb. 1.

B. Spezielle Reaktionen auf den Elektrophoresestreifen.

a) *Ninhydrinfärbung.* Der lufttrockene Streifen wird durch eine Lösung von 0,5 g Ninhydrin und 0,5 ml Eisessig in 100 ml Methanol gezogen, nach dem Abtropfen 5—15 min in einem Trockenschrank auf 90—100° C erhitzt, bis die Fraktionen gut zu erkennen sind.

b) *Reaktion auf Arginin nach SAKAGUCHI (in Anlehnung an GLICK).* Der lufttrockene Streifen wird 1 min in Methanol mit 0,1% α -Naphthol eingelegt, nach dem Abtropfen einige Male durch 0,15 n NaOCl in 0,05 n NaOH (frisch ansetzen!) gezogen, wobei die Fraktionen sich intensiv weinrot färben. Anschließend wird durch 20% ige Harnstofflösung in 0,05 n NaOH gezogen. Die Farbe schwindet sehr bald und bei der schwächeren Fraktion II zuerst.

c) *Färbung mit Millons Reagens.* Der Streifen wird vorsichtig durch das Reagens gezogen und ebenso vorsichtig auf 80—100° C erhitzt. Die spezifische Rotfärbung bleibt aus, es erscheint aber ein Orange.

d) *Tryptophannachweis durch Fluoreszenz (in Anlehnung an NEHER und WETTSTEIN).* Der bei 100° C getrocknete Streifen wird mit einer gesättigten Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform getränkt, im Trockenschrank 30 sec bis 2 min auf 100° C erhitzt und sofort unter der Analysenquarzlampe betrachtet.

Um die beiden stärkeren Fraktionen auf Tryptophan zu prüfen, führten wir zunächst eine Art Fichtenspan-Reaktion auf dem Papier durch: der getrocknete Streifen wurde mit 25%iger Trichloressigsäure in Chloroform getränkt und 1—3 min auf 100° C erhitzt. Es trat nur eine schwache Braunfärbung auf, jedoch half ein Nebenfund von NEHER und WETTSTEIN weiter, die mit ihrer zunächst auf Steroide angewandten Phosphorsäurereaktion unter 23 untersuchten Aminosäuren nur bei Tryptophan positive Reaktion fanden (auf dem Papierchromatogramm gelbe bis grüne bis bläuliche Fluoreszenz im UV-Licht, violette Farbe im sichtbaren Licht). Da das Papier durch Phosphorsäure stark leidet, behandelten wir die Elektrophoresestreifen auf die oben angegebene Art mit Antimontrichlorid. Dieses ist von NEHER und WETTSTEIN zum Nachweis von Steroiden angegeben und von uns (HABERMANN, MÜLLER und SCHREGLMANN) zum Nachweis von Digitaliskörpern im Papierchromatogramm verwendet worden. Unter 17 Aminosäuren reagierte nur Tryptophan positiv. Die Fluoreszenzfarben sind ähnlich wie bei der Phosphorsäurereaktion, im sichtbaren Licht tritt eine mehr rotbraune Farbe auf. Beide Hauptfraktionen von Bienengift zeigen nach der Behandlung mit Antimontrichlorid und weniger deutlich auch nach Einwirkung von sirupöser Phosphorsäure im UV-Licht die für Tryptophan typischen Fluoreszenzfarben, treten aber im sichtbaren Licht weniger deutlich hervor.

Alle 3 Fraktionen ergeben positive Ninhydrinreaktion (rotbraune Farbe). Fraktion I und II färben sich bei der SAKAGUCHI-Reaktion auf Arginin intensiv rot. Bei der MILLONschen Reaktion werden beide gelb bis orange. Ob dies von Tyrosin herrührt, müssen wir offen lassen. REINERT konnte in gereinigtem Bienengift mit der MILLONschen Probe kein Tyrosin nachweisen, auch unser Pikratgift gibt in vitro nur eine schwache Färbung. F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN untersuchten auf unsere Anregung nach Abschluß unserer vorstehend geschilderten Untersuchungen das Pikratgift näher und konnten es chromatographisch in 2 Fraktionen zerlegen, die den von uns papierelektrophoretisch erhaltenen entsprechen; Tyrosin konnten F. G. FISCHER u. H. DÖRFEL nur in Fraktion II finden. Tryptophan ist schon von FLURY und von REINERT im Bienengift nachgewiesen worden.

Für das Vorliegen von ungesättigten Bindungen bzw. Ringsystemen spricht auch die starke bläuliche Fluoreszenz von gereinigtem Bienengift im ultravioletten Licht. Die elektrophoretisch getrennten Komponenten I und II fluorescieren ebenfalls auf dem trockenen Filterstreifen, FI wesentlich stärker als F II, entsprechend der Färbbarkeit mit Amidoschwarz. Die schnellste Fraktion 0 ist bisher nur mit Amidoschwarz und Ninhydrin lokalisiert worden; vielleicht sind die anderen Reaktionen nur wegen zu geringer Eiweißkonzentration auf dem Elektrophoresestreifen ausgeblieben.

Fraktion I und II zeigen eine für Eiweißkörper typische UV-Absorption mit einem Maximum bei 279 m μ , auf die später in anderem Zusammenhang eingegangen werden wird.

Histamin haben wir elektrophoretisch mit unserer Versuchsanordnung in dem von uns verwendeten Pikratgift nicht nachweisen können,

wohl aber in Nativgift (siehe unten). Zugewetztes bzw. auf breiten Streifen mitlaufendes Histamin (0,007 ml 1% ige wäßrige, neutralisierte Histamindihydrochloridlösung und 0,007 ml 10% iges Pikratgift in physiologischer Kochsalzlösung neben- oder aufeinander aufgetragen) wandert erheblich schneller als Pikratgift, färbt sich auch mit Ninhydrin deutlich anders (braun).

II. Papierelektrophorese von Nativgift.

Werden Bienen mit der Pinzette um die Thorako-Abdominalverbindung gefaßt und gegen den bereits in der Elektrophoresekammer liegenden feuchten Streifen gedrückt, so stechen sie in der Regel; der Stachel samt dem Giftdrüsenapparat bleibt bei der Wegnahme des Tieres im Papier stecken. Er wird entfernt, sobald sich die Giftdrüsen leergepumpt haben. Ein Stich entspricht etwa 0,1 mg Trockensubstanz.

Bei einer Elektrophoresedauer von 30—240 min (Phosphatpuffer pH 7,0, Ionenstärke 0,1, 18°C) finden sich Fraktion 0, I und II im Nativgift etwa im gleichen Verhältnis wie im Pikratgift (Abb. 3), jedoch treten daneben noch weitere Fraktionen auf, die offenbar bei einer Pikrinsäurefällung des Giftes ganz oder größtenteils in Lösung bleiben. Eine in Bezug auf Ninhydrinfärbung und Wanderungsgeschwindigkeit mit Histamin gleichzusetzende Substanz wandert aus dem Komplex der Eiweißkörper heraus. Eine mit Ninhydrin rotbraun färbbare Komponente wandert sehr schnell kathodisch, eine sich ebenso färbende anodisch. Schließlich verrät sich noch in eigenartiger Weise ein weiterer Bestandteil, wenn der gefärbte Streifen einige Zeit lagert: auf dem bei kräftiger Ninhydrinbehandlung allgemein schwach bräunlichen Papier erscheint anodenwärts ein halbmondförmiger, farbloser Fleck, gewissermaßen das Negativ einer Ninhydrinfärbung.

III. Papierelektrophorese von getrocknetem Nativgift.

Hier finden sich die gleichen Komponenten wie bei der Elektrophorese von Frischgift aus einzelnen Bienenstichen. Zusätzlich liefert aber 1 mg des getrockneten Giftes noch eine bei Ninhydrinfärbung schwach gelbliche Fraktion zwischen F 0 und der Histaminfraktion. Insgesamt ordnen sich die hier beschriebenen Komponenten von Nativgift in der aus Tab. 1 ersichtlichen Weise an.



Abb. 3. Papierelektrophorese von 2 einzelnen Bienenstichen. 4 V/cm, 20°C, Phosphatpuffer pH 7,0, Ionenstärke 0,1, 4 Std Laufzeit, WHATMAN I-Papier. Ninhydrinfärbung. St. = Stichstelle.

Die Frage ist noch offen, ob in dem von uns untersuchten Nativgift neben den aus den Giftdrüsen stammenden Komponenten etwa auch solche vorliegen, die von Anhangsgebilden (Glandulae sebaceae) produziert werden, und ob vielleicht gewisse Bestandteile durch Verunreinigung, etwa mit Leibeshöhlenflüssigkeit, hineingelangt sind. Der am schnellsten kathodenwärts wandernde Fleck ist nämlich verschieden stark ausgebildet, wenn man die Bienen beim Stechen mehr oder weniger stark drückt. Leibeshöhlenflüssigkeit läßt einen ähnlichen, schnell kathodenwärts wandernden Fleck entstehen. Andererseits ist es aber wenig wahrscheinlich, daß Leibeshöhlenflüssigkeit in unser getrocknetes Nativgift gelangt sein könnte, bei dessen Gewinnung die Bienen eine Membran durchstoßen haben.

Tabelle 1. Elektrophoretische mit Ninhydrin darstellbare Komponenten von Bienen-Nativgift.

Nr. der Fraktion	Anodisch (a) od. kathodisch (k) wandernd	Färbbar durch		Im Pikratgift vorhanden	Aus dem Giftapparat stammend	Bemerkungen
		Amidoschwarz	Ninhydrin			
1	k	—	+ (rotbraun)	—	?	?
2	k	—	+ (braun)	—	+	Histamin
3	k	—	+ (gelb)	—	?	?
4	k	+	+	+	+	Eiweiß (F 0)
5	k	+	+	+	+	Eiweiß (F I)
6	k	+	+	+	+	Eiweiß (F II)
7	a	—	+	—	?	?
8	a	—	„Negativ“	—	?	Säure?

IV. Gewinnung der Fraktionen aus Elektrophoresestreifen von Pikratgift.

In den uns zur Verfügung stehenden Chargen von Pikratgift finden sich nur die eiweißartigen Fraktionen F 0, F I und F II. Sie enthalten den weitaus größten Teil der pharmakologischen Gesamtaktivität des nativen Giftes, so daß wir zunächst die Gewinnung dieser Komponenten angestrebt haben.

8,5 cm breite, mit Puffer getränkte Streifen werden mit je 1,5 mg Pikratgift in 0,015 ml physiologische Kochsalzlösung beschickt und der Elektrophorese unterworfen. Auf den getrockneten Streifen wird die Lage der Fraktionen bestimmt. Wir haben zunächst die fluoreszierenden Stellen unter der Quarzlampe angezeigt, bis sich herausstellte, daß Bienengift durch Ultraviolettbestrahlung relativ schnell inaktiviert wird. Seitdem schneiden wir auf beiden Seiten der Streifen etwa 1 cm breit den Rand ab, färben diesen mit Amidoschwarz und lokalisieren so die Fraktionen. Aus dem ungefärbten Teil von je 30—50 Elektrophoresestreifen werden sie herausgeschnitten und zweimal mit möglichst wenig Flüssigkeit 1—2 Std lang eluiert. Zunächst haben wir dazu Puffer von pH 7 benutzt, später wegen der besseren Ausbeute $m/10$ Citratpuffer von pH 2; legt man Wert auf die Gewinnung der Hyaluroni-

dase des Giftes, so darf man pH 4 nicht unterschreiten. Die Flüssigkeit wird abgenußt, mit Pikrinsäure bis zur Sättigung versetzt und 2 Std stehen gelassen. Bei Fraktion I scheidet sich ein reichlicher Niederschlag ab, bei Fraktion II, die durch Pikrinsäure schwerer fällbar ist, ein wesentlich geringerer. Der gelbe Niederschlag wird abzentrifugiert, im Glas mit salzsaurem Aceton (0,5 ml konzentrierte Salzsäure auf 100 ml Aceton) zersetzt und zweimal ausgewaschen. Der farblose Rückstand wird mit wenig Wasser aus dem Zentrifugenglas in ein Glasschälchen gespült und im Vakuum getrocknet.

Beide Fraktionen werden so als Hydrochlorid erhalten, das im Falle von Fraktion I in Wasser leicht löslich ist; bei Fraktion II bleiben vereinzelte Teilchen ungelöst. Fraktion 0 ist bisher auf diese Weise bei pH 7 noch nicht isoliert worden, da die Trennschärfe hier nicht ausreicht. Nach Elektrophorese bei pH 2 und anschließender Elution besitzt F 0 im Gegensatz zu F I und II keine der von uns bisher untersuchten Eigenschaften von Bienen-Gesamtgift und interessiert daher unter unseren pharmakologischen Gesichtspunkten weniger. Sämtliche untersuchten Wirkungen finden sich in F I und F II wieder. Fraktion I, die bei pH 7 erhalten ist, läßt bei erneuter elektrophoretischer Prüfung keine Beimengung von F II erkennen, enthält aber geringe Mengen von F 0. Wesentlich zuverlässiger als die papierelektrophoretische Prüfung auf Reinheit ist die pharmakologische und biochemische Auswertung; denn F I und F II sind von sehr verschiedener Wirkung.

Über die papierelektrophoretische Auftrennung verschiedener Schlangengifte und die Gewinnung und pharmakologische Prüfung ihrer Komponenten berichten wir an anderer Stelle.

V. Pharmakologische und fermentative Wirkungen der elektrophoretisch erhaltenen Bienengiftfraktionen.

Die örtliche Reizwirkung des Bienengiftes, sein Einfluß auf glatte und quergestreifte Muskulatur und auf den Herzmuskel, auf das Zentralnervensystem, den Nerven und seine Endigungen, auf den Kreislauf und auf rote Blutkörperchen sind wiederholt studiert worden, wichtige Fermente — eine Phospholipase A (vgl. u. a. MORGENROTH u. CARPI, BELFANTI) und eine Hyaluronidase (CHAIN u. DUTHIE) — sind in dem Gift nachgewiesen worden. Man weiß, daß es Thrombokinase (DYCKERHOFF u. MARX) und Dehydrasen (FLECKENSTEIN, TIPPELT u. KRONER) schädigen, die Eidotterkoagulation hemmen (FLECKENSTEIN u. FETTIG) und Histamin freisetzen (FELDBERG u. KELLAWAY) kann, auch selbst Histamin enthält. Eine strikte Zuordnung der genannten Wirkungen zu bestimmten auslösenden Substanzen ist jedoch früheren Untersuchern nicht möglich gewesen. Offen geblieben ist vor allem, ob bei den pharmakologischen Wirkungen des Giftes die Fermente den Ausschlag geben oder ob dabei auch ein Toxin im klassischen Sinne eine Rolle spielt.

1. Verteilung der hämolytischen Wirkung.

Wie schon vor einiger Zeit mitgeteilt (NEUMANN, HABERMANN u. HANSEN), enthält Bienengift 2 hämolytische Komponenten: ein direkt hämolysierender Faktor vermag gewaschene Erythrocyten, nicht aber Lecithin anzugreifen und findet sich in der bei der Elektrophorese relativ schnell laufenden Fraktion I; ein indirekt hämolysierendes Prinzip entspricht der Phospholipase (Lecithase) A und ist in der langsameren Fraktion II enthalten. Das Ferment greift gewaschene Erythrocyten nicht

oder nur sehr schwach an, führt aber zugesetztes Lecithin durch Abspaltung der ungesättigten Fettsäure in sogenanntes Lysocithin (DELEZENNE u. FOURNEAU; vgl. NEUMANN, HABERMANN u. HANSEN) über, das dann seinerseits die Hämolyse herbeiführt.

Die durch F I verursachte Hämolyse verläuft deutlich anders, wenn gleichzeitig noch F II einwirkt. Abb. 4 zeigt neben der steilen Dosis-Wirkungskurve von sogenanntem Pikratgift, das beide Prinzipien enthält, die typische, wesentlich flachere von F I. Die außerdem eingetragenen Einzelpunkte stellen die durch Zusatz von Naia-Naia-Gift zu Fraktion I erreichten Hämolysegrade dar; das Kobragift enthält ebenfalls eine starke Phospholipase A; in den hier zugesetzten Mengen ist es direkt-hämolytisch unwirksam. Auch durch

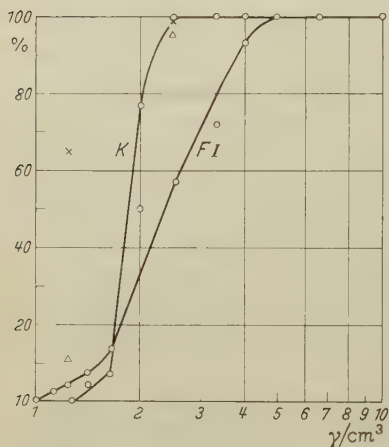


Abb. 4. Direkte Hämolyse durch Pikratgift (K) und Fraktion I. Ordinate: Prozent freigesetztes Hämoglobin. Abszisse: Pikratgift bzw. Fraktion I in γ/ml -Ansatz. $\circ$ ohne Zusatz von Naia-Naia-Gift; $\times$ bei Zusatz von 2,5 γ/ml Naia-Naia-Gift zum F I enthaltenden Ansatz; Δ bei Zusatz von 0,5 γ/ml Naia-Naia-Gift zum F I enthaltenden Ansatz.

Zusatz von elektrophoretisch erhaltener Bienengiftfraktion II zu F I läßt sich eine ähnliche Verstärkung des Hämolysegrades erreichen. Es besteht also bei der Hämolyse durch Bienen-Gesamtgift oder -Pikratgift ein Synergismus beider Komponenten, vielleicht in dem Sinne, daß F I zunächst Erythrocyten angreift und Lecithin freisetzt, das dann von der Phospholipase A der Fraktion II in Lysocithin übergeführt wird, welches schließlich die durch F I eingeleitete Hämolyse verstärkt. Ein ähnlicher Synergismus erscheint auch bei anderen pharmakologischen Effekten von Bienengift möglich.

Wegen ihrer Einfachheit, Empfindlichkeit und relativen Zuverlässigkeit haben wir die direkte, auf F I beruhende und die indirekte, durch F II ausgelöste Hämolyse als Test für die Reinheit der von uns hergestellten Fraktionen benutzt. Analog sind die oben erwähnten, im Chemischen Institut der Universität Würzburg chromatographisch

gewonnenen Fraktionen (F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN) untersucht worden. Die chromatographisch erhaltene Fraktion I zeigt die gleiche Dosis-Wirkungs-Kurve wie die von uns elektrophoretisch gewonnene. Es dürften also während der Elektrophorese kaum Änderungen an dem für die direkte Hämolyse wesentlichen Eiweißbestandteil eingetreten sein.

Ermittlung der Hämolyse-(Dosis-Wirkungs-)Kurve. Von einer 2%igen Suspension dreimal mit Kochsalzlösung gewaschener menschlicher Erythrocyten in Phosphatpuffer nach SÖRENSEN werden jeweils 5 ml mit 5 ml der in geometrischer Reihe verdünnten Giftlösung in Phosphatpuffer 40 min lang bei 37° C gehalten. Anschließend wird 3 min bei 3500 U/min zentrifugiert, das Überstehende abgegossen und mit einem Tropfen 10%iger Kaliumferricyanidlösung versetzt. Die Photometrierung erfolgt bei Reihenversuchen mit PULFRICH-Stufenphotometer mit Filter S 50.

2. Verteilung der Muskelwirkungen.

a) *Wirkungen am Herz- und Skelettmuskel des Frosches.* Bienengift führt am isolierten Froschherzen zu systolischem Stillstand (FLURY), oft nach vorhergehender Schädigung des reizbildenden und reizleitenden Apparates. Auch den willkürlichen Muskel von Frosch (HOFMANN, 1) und Warmblüter (HOFMANN, 2) bringt es noch in Verdünnung 1:100 000 zur Kontraktion. Diese Effekte lassen sich weder durch den Histamingehalt des Giftes, noch durch Histaminfreisetzung, noch durch Lysocithinbildung erklären.

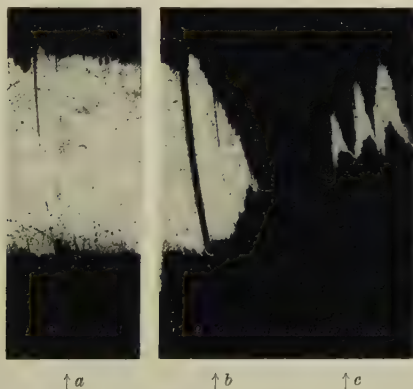


Abb. 5. Isoliertes, spontanschlagendes Temporariherz. *a* = Fraktion II 1:10 000. *b* = Fraktion I 1:10 000. Zeitschreibung 30 sec. Zwischen *a* und *b* sowie bei *c* mehrfache Spülung mit Tyrode.



Abb. 6. Froschsartorius. *a* = Fraktion II 1:10 000. *b* = Fraktion I 1:10 000. Zeitschreibung 30 sec.

Am Froschherzen hat von den elektrophoretisch und chromatographisch gewonnenen Fraktionen in den von uns angewandten Konzentrationen (1:10 000 bis 1:50 000) nur F I eine Wirkung. Ebenso wie Bienen-Gesamtgift führt sie zur Kontraktur und schließlich zum Stillstand in Systole; F II ist ohne jede Wirkung (Abb. 5).

Am Froschsartorius bietet sich ein analoges Bild (Abb. 6): F I führt in Verdünnung 1:50 000 zur typischen, oft zweigipfligen Bienengiftkon-

traktur, anschließend ist der Muskel unerregbar, auch nach mehrmaligem Auswaschen (tachyphylaktische Wirkung). F II ist in gleicher Konzentration ohne Effekt. Auch mit Eluaten der bei p_H 2 hergestellten F 0 (vgl. oben S. 368) ist keine Kontraktur zu erzielen, wohl aber mit Eluaten aus den bei p_H 2 vereint laufenden Fraktionen I und II.

b) *Wirkungen am Meerschweinchendarm.* Der isolierte Meerschweinchendarm ist ein recht schwieriges Testobjekt für Bienengift, wie schon

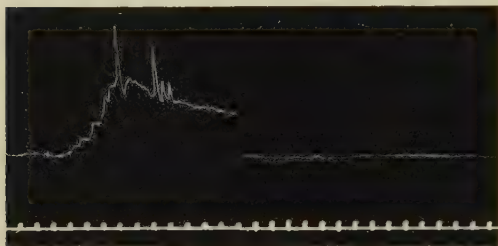


Abb. 7. Isoliertes Meerschweinchenileum. *a* = Fraktion I 1:250 000, *b* = Fraktion II 1:250 000. Zeitschreibung 30 sec. Zwischen *a* und *b* mehrfache Spülung; der Darm sprach anschließend noch auf Fraktion I an.

RICHTER festgestellt hat. Wiederholte Giftgaben führen zur Tachyphylaxie, die manchmal schon nach der ersten, oft aber erst nach weiteren Applikationen eintritt. Darmstücke des gleichen Tieres verhalten sich verschieden und reagieren auch sehr unterschiedlich auf gleiche initiale Giftdosen.

Manchmal tritt jedoch die Tachyphylaxie nur langsam ein. Solche Darm-

stücke sind dann zur Testung geeignet. Wir haben alternierend F I und II gegeben, bis der Darm gegen eine der beiden Komponenten unerregbar war. Fraktion I ist sehr viel aktiver als F II (Abb. 7), wenn auch durch F II in den verwendeten Konzentrationen (1:250 000) an frischen Darmstücken schwache Kontraktionen auszulösen sind. Wir möchten dies jedoch auf geringe Beimengungen von F I zurückführen, die bei dem sehr empfindlichen, aber wenig genauen Test noch zur Wirkung kommen.

3. Verteilung der lokalen Reizwirkung.

Fraktion I schmeckt in Lösung 1:1000 wie Pikratgift stark bitter und ruft von der Nasenschleimhaut aus Niesreiz hervor. Fraktion II dagegen reizt weder die Zungen- noch die Nasenschleimhaut.

Am Kaninchenauge haben wir jeweils 0,05—0,1 ml von Lösungen 1:1000 bis 1:10000 der elektrophoretischen Fraktionen und der chromatographischen Fraktion I gegeneinander sowie gegen Pikratgift ausgewertet. In einer weiteren Versuchsreihe wurde in ein Auge ein Gemisch von F I und II gegeben, in das andere F I.

Fraktion I verursacht Lidspasmus, Hyperämie, Chemosis und Hypersekretion, die in fast der gleichen Intensität auftreten wie bei der Applikation von Pikratgift; Fraktion II dagegen wirkt erheblich schwächer. Das Wirkungsverhältnis von F I zu II beträgt nach Versuchen an ins-

gesamt 16 Kaninchen etwa 5:1. Vergleicht man F I mit einem Gemisch aus F I und II mit gleicher Endkonzentration an F I, so ergibt sich innerhalb einer Beobachtungszeit von 2 Std am zweiten Auge keine wesentliche Aktivierung von F I durch II (Tab. 2).

4. Verteilung der Allgemeintoxizität.

TETSCH u. WOLFF fanden für getrocknetes, gereinigtes Bienengift eine tödliche Dosis von 6—10 mg/kg Maus bei subcutaner Injektion, REINERT 4 mg/kg Maus bei intravenöser Injektion, LAUTER u. GRIGGS nennen eine Dlm von 3,5 mg/kg.

Wir haben die Allgemeintoxizität durch intravenöse Injektion an weißen Mäusen von 15—25 g geprüft. Von Lösungen 1:1000 bis 1:4000 wurden dabei jeweils 0,1—0,2 ml in etwa 30 sec eingespritzt (Tab. 3).

Todesfälle, die mehr als 24 Std nach der Injektion eintraten, wurden nicht mehr gezählt, da dann offenbar sekundäre Einflüsse mitspielen. Das Vergiftungsbild war verschieden: manche Tiere bekamen Krämpfe, manche wurden komatös, gelegentlich wurde das Koma von Krämpfen durchbrochen. In den meisten Fällen kam es zu mehr oder weniger schwerer Atemnot (curareartige Wirkung?). Häufig waren Schwanz und Extremitäten nach der Injektion blau verfärbt. Zwischen den Erscheinungen bei Injektion von Pikratgift oder von Fraktion I bestanden keine eindeutigen Unterschiede.

Wie Tab. 3 zeigt, lag die LD_{50} für das von uns verwendete Standard-Pikratgift 51 zwischen 3 und 4 mg/kg, ebenso für die von F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN chromatographisch gewonnene Fraktion I. Die von uns papierelektrophoretisch erhaltenen Chargen wirkten deutlich schwächer. Dies mag mit Veränderungen im Laufe der Trennung und Rückgewinnung zusammenhängen; denn Pikratgift, das bei p_H 7 der Elektrophorese unterworfen, aber unfractioniert im ganzen eluiert wird, zeigt ebenfalls einen Abfall der Gesamttoxizität.

Fraktion II dürfte ohne wesentlichen Einfluß auf die durch intravenöse Injektion bestimmte Gesamttoxizität sein; denn elektrophoretisch gewonnene Präparate waren noch in Dosen von 7 bzw. 9 mg/kg ohne erkennbare Wirkung, obwohl sie bestimmte fermentative Effekte mehr als doppelt so stark zeigten wie Gesamtgift¹. Auch F 0 dürfte keine wesentliche Bedeutung für die Toxizität des Gesamtgiftes haben; denn Pikratgift, das durch Elektrophorese bei p_H 2 von F 0 befreit worden war, zeigte die gleiche Gesamttoxizität wie elektrophoretisch gewonnene Fraktion I oder bei p_H 2 der Elektrophorese unterworfenen, aber im ganzen eluierten Pikratgift.

¹ Anm. bei d. Korr.: ebenso bei 5 mg/kg ein FII-Präparat mit 8facher Phospholipaseaktivität.

Tabelle 2. Wirkung des Bienen-Pikratgiftes und seiner elektrophoretischen Fraktionen am Kaninchenauge.

Kaninchen Nr.	rechtes Auge				linkes Auge				Bemerkungen
	Substanz	Sp.	Hyp.	Schw.	Substanz	Sp.	Hyp.	Schw.	
1	FI 1: 2000	++	+++	+++	FI 1: 2000	—	++	++	bei FI II langsamer einsetzend
2	FI 1: 2000	+++	+++	+++	FI 1: 2000	(+)	+	+	desgleichen
3	FI 1: 1000 FI 1: 1000	+++	+++	+++	FI 1: 2000	+++	+++	+++	beiderseits gleich stark
4	FI 1: 2000 FI 1: 2000	+++	+++	+++	FI 1: 4000	+++	+++	+++	rechts vielleicht etwas stärker
5	FI 1: 2000 FI 1: 2000	+++	+++	+++	FI 1: 4000	+++	+++	+++	
6	FI 1: 2000 FI 1: 2000	+++	+++	+++	FI 1: 4000	+++	+++	+++	
7	FI 1: 2000 FI 1: 2000	+++	+++	+++	FI 1: 4000	+++	+++	+++	
8	PG 1: 5000	+	++	++	FI 1: 5000	++	++	++	links etwas stärker
9	PG 1: 5000	+	++	++	FI 1: 5000	++	++	++	rechts etwas stärker
10	PG 1: 10000	—	(+)	—	FI 1: 10000	—	—	—	
11	PG 1: 10000	(+)	+	(+)	FI 1: 10000	(+)	(+)	(+)	

Sp. Lidspasmus; Hyp. Hyperämie; Schw. Schwellung; — keine Wirkung; (+) angedeutete Wirkung; + schwache Wirkung
++ mäßige Wirkung; +++ starke Wirkung.

Der Schluß erscheint also berechtigt, daß die allgemeintoxische Wirkung von Bienengift ebenso wie die lokale Reizwirkung der Fraktion I zukommt. Diese Effekte sind aber anscheinend gegenüber dem von uns eingehaltenen Aufarbeitungsverfahren etwas labiler als die direkte hämolytische Wirkung, die sich nach der Elektrophorese und Elution praktisch quantitativ in F I wiederfindet.

Tabelle 3. *Toxizität des Bienen-Pikratgiftes und seiner Fraktionen für weiße Mäuse (Zahl der Todesfälle zu Zahl der Versuche; intravenöse Injektion, Beobachtung 24 Std).*

Dosis mg/kg	Pikratgift 51	F I		F II	F I + F II (elektroph.)	
		elektro- phoretisch	chromato- graphisch	elektro- phoretisch	bei pH 7 gewonnen	bei pH 2 gewonnen
2,0	0/3	—	0/2	—	—	—
3,0	2/7	—	1/4	—	0/2	1/3
4,0	7/9	0/4	3/3	—	1/3	1/3
5,0	11/12	2/4	2/2	—	2/3	2/3
6,0	5/6	1/3	2/2	—	2/2	3/3
7,0	4/4	1/1	—	0/2	—	—
8,0	1/1	—	—	—	2/2	—
9,0	—	—	—	0/1	—	—
10,0	2/2	1/1	—	—	1/1	—

5. Verteilung der Phospholipaseaktivität.

Durch Untersuchungen von BELFANTI ist schon lange bekannt, daß Bienengift eine sehr starke Lecithase — nach heutiger Nomenklatur (ZELLER) eine Phospholipase A besitzt. Wir haben dieses Ferment in der elektrophoretischen Fraktion II (NEUMANN, HABERMANN u. HANSEN) gefunden und an anderer Stelle über seine Wirkungsbedingungen näher berichtet (NEUMANN u. HABERMANN). Gibt man dem Pikratgift 51 den Lecithaseindex 1,0, so ist für F I im methanolhaltigen Ansatz (über diese Bezeichnungen und die Methodik vgl. NEUMANN u. HABERMANN) der Index kleiner als 0,1, für F II dagegen 2,6. Die Phospholipase-Aktivität ist also in F II gegenüber dem Ausgangsmaterial beträchtlich angereichert; sie fehlt in F 0, ist vielmehr nach Elektrophorese bei pH 2 in der gemeinsam gewanderten Fraktion I + II nachweisbar.

6. Thrombokinaseinaktivierung durch Bienengift.

Schon DYCKERHOFF u. MARX fanden, daß Bienengift Thrombokinase zu inaktivieren vermag. FLECKENSTEIN u. O. FETTIG untersuchten den Einfluß von Phosphatase-Inhibitoren auf diesen Prozeß.

Wir benutzten als Thrombokinasepräparate homogenisiertes Kaninchenhirn, welches wir zur Zerstörung von anderweitigen gerinnungsaktiven Bestandteilen eine

halbe Stunde auf 56—58° C erhitzten, anschließend zentrifugierten und filtrierten. 0,1 ml Giftlösung (Fraktion 0, I, II oder Pikratgift 51) in Veronalpuffer wurden mit 0,1 ml Hirnthrombokinas-Präparat in physiologischer Kochsalzlösung und 0,2 ml 0,25% iger Calciumchloridlösung in Veronalpuffer pH 7,55 2 Std bei 37° C gehalten und anschließend mit 0,4 ml einer Plasma-Veronalpuffer-Verdünnung 1:8 vereinigt. Die Koagulationszeit wurde bei 37° C bestimmt.

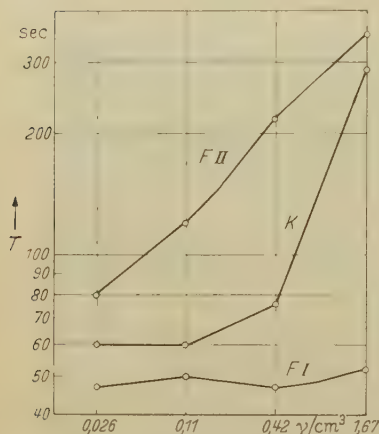


Abb. 8. Thrombokinasabbau durch Fraktion I und II im Vergleich zu gereinigtem Gift (K). Ordinate: Gerinnungszeit in Sekunden. Abscisse: γ /ml Bebrütungsansatz. Ansätze: siehe Text.

Fraktion I ist ebenso wie F 0 in den untersuchten Konzentrationen völlig unwirksam, F II dagegen erheblich aktiver als das Ausgangsgift (Abb. 8).

7. Wirkung der Fraktionen auf die Bernsteinsäuredehydrierung durch Rinderhirnhomogenat.

Nach FLECKENSTEIN, TIPPETT u. KRONER vermag Bienengift ebenso wie Schlangengifte die Aktivität verschiedener Dehydrasensysteme zu mindern. In einem Rinderhirnhomogenat läßt sich die Änderung der Bernsteinsäuredehydrierung nach Zusatz von Bienengift und seinen Fraktionen gut verfolgen (SCHOETENSACK).

1 ml Hirnhomogenat wird mit 1 ml 1% iger Triphenyltetrazoliumchloridlösung, 1 ml Phosphat-Bicarbonatpuffer (pH 7,5), 1 ml Giftlösung in Puffer und 1 ml 1% iger mit NaOH neutralisierter Bernsteinsäurelösung 1 bzw. 2 Std bei 37° C

gehalten. Anschließend wird das entstandene Formazan mit 20 ml Isopropylalkohol extrahiert und im PULFRICH-Photometer bestimmt (1 cm-Küvette, Filter S 53). In Tab. 4 stellt jeder Wert das arithmetische Mittel aus 3 Bestimmungen dar.

Tabelle 4. Vergleich der Minderung der Bernsteinsäuredehydrierung durch Bienen-Pikratgift und seine elektrophoretischen Fraktionen.

	Kontrolle		Fraktion I				Fraktion II		Pikratgift 51	
	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std
Einwirkungsdauer	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std	1 Std	2 Std
Extinktion	0,92	1,50	0,92	1,50	0,85	1,39	0,46	0,79	0,54	0,87
% „Hemmung“	—	—	0,0	0,0	7,6	7,0	50,0	48,0	41,3	41,7

Bezieht man die in Tab. 4 angeführte „Hemmung“ der Formazanbildung auf eine Eichkurve (SCHOETENSACK u. SEIFERT), so ergibt sich, daß F II die Formazanbildung 2—3mal stärker mindert als die gleiche Konzentration von Pikratgift, während F I nur etwa 1/60 bis 1/70 der Aktivität des Pikratgiftes besitzt.

8. Hemmung der Hitzeagulation von Eigelb.

BOQUET, DWORETZKY u. ESSEX haben beobachtet, daß Eigelb unter dem Einfluß von Kobragift die Fähigkeit verliert, in der Hitze zu koagulieren. FLECKENSTEIN u. B. FETTIG, sowie FLECKENSTEIN u. JAEGER fanden einen analogen Effekt von Bienengift und entwickelten hieraus eine Testreaktion.

Im Prinzip werden von einer Eigelb-Phosphatpuffer-Mischung 4:5 je 9 ml mit 1 ml Gifflösung in physiologischer Kochsalzlösung vereinigt; nach 2stündiger Bebrütung bei 37°C wird der Ansatz ins siedende Wasserbad gebracht und koaguliert.

Als Ursache des Verlustes bzw. der Verzögerung der Gerinnbarkeit haben FLECKENSTEIN u. Mitarb. eine Phosphatasewirkung angenommen. Wir müssen jedoch auf Grund von Untersuchungen, über die an anderer Stelle eingehend berichtet werden wird, die Phospholipase A für diesen Effekt verantwortlich machen; die dotterkoagulationshemmende Wirkung von Bienengift findet sich ausschließlich in F II, welche die Phospholipase A enthält (Abb. 9).

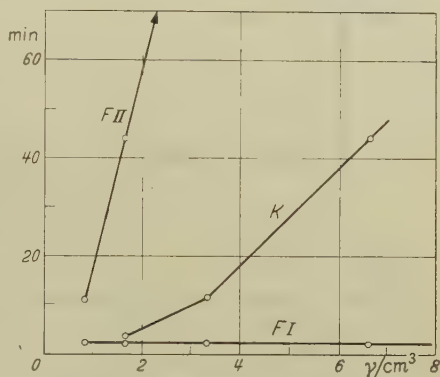


Abb. 9. Hemmung der Hitzeagulation von Eigelb durch die elektrophoretischen Fraktionen. Ordinate: Gerinnungszeit in Minuten. Abscisse: γ/ml-Ansatz. Ansätze: siehe Text.

9. Verfolgung der Hyaluronidaseaktivität.

DURAN-REYNALS hat gefunden, daß Gesamtextrakte von Bienen die sogenannte Spreading-Wirkung besitzen, CHAIN u. DUTHIE haben im Giftsekret eine viscositätssenkende Substanz nachgewiesen. WERLE, TURTUR u. BAUEREIS vertreten aber die Auffassung, die viscositätssenkende und mucinolytische Fähigkeit von Bienengift sei nicht auf ein Ferment zurückzuführen, weil sie thermostabil sei. Ausführliche eigene Untersuchungen bestätigen jedoch das Vorliegen einer Hyaluronidase im Bienengift. An dieser Stelle soll nur über die Verteilung dieses Fermentes auf die Bienengiftfraktionen berichtet werden.

Pikratgift ist für derartige Untersuchungen wenig geeignet, weil die Hyaluronidase bei der Fällung und Zersetzung des Pikrates erheblich an Aktivität verlieren kann. Immerhin läßt sich bei vorsichtiger Gewinnung der elektrophoretischen Fraktionen zeigen, daß sich die vorhandene Aktivität in F II anreichert, während F I praktisch frei davon ist.

Rohe Nabelschnur-Hyaluronsäure wurde durch Acetonfällung eines Extraktes zerkleinerter menschlicher Nabelschnüre gewonnen und in Wasser mit 0,85% Kochsalz 1:250 gelöst. Hiervon wurden 0,5 ml mit 0,5 ml einer Lösung 1:2000 von

Pikratgift bzw. elektrophoretisch erhaltener F I und F II in Phosphat-Citratpuffer (p_H 5,5) nach MCLVAINE versetzt. Als Maß der bei Zimmertemperatur eintretenden Viskositätssenkung des Gemisches wurde von Minute zu Minute nach GIBIAN die Auslaufgeschwindigkeit aus einer engen Pipette bestimmt. Sie verdoppelte sich bei Einwirkung von Pikratgift bzw. von F II in 23 bzw. 17 min, während F I innerhalb einer halben Stunde die Auslaufgeschwindigkeit nicht nachweisbar beeinflusste.

Wesentlich aktiver ist das Gesamtgift, das durch vorsichtige Trocknung von nativem Drüsensekret gewonnen wurde, und ebenso die daraus hergestellte F II.

Je 1,6 mg Nativgift wurden auf 2 Streifen bei p_H 7,0 aufgetrennt, die Hauptmenge der Fraktionen F I und F II mit je 2,4 ml Citrat-Phosphatpuffer von p_H 5,0 2 Std lang eluiert. Von den abgenutzten Eluaten kamen je 0,5 ml zu 0,5 ml der oben erwähnten Hyaluronsäure-Lösung. Dann wurde die Änderung der Auslaufgeschwindigkeit verfolgt. Analog wurde mit Nativgift verfahren, das bei p_H 2,0 in F 0 und die bei diesem p_H gemeinsam laufende Zone F I + II aufgeteilt worden war. In Anlehnung an MADINAVEITIA und QUIBELL werden in Tab. 5, Spalte 4 als Maß der Aktivität die Kehrwerte der jeweiligen Reaktionszeiten aufgeführt, d. h. jener Zahl von Minuten, in welcher die doppelte Auslaufgeschwindigkeit erreicht wurde. Da zur Schonung der Hyaluronidase darauf verzichtet wurde, die eluierten Fraktionen über das Pikrat in Substanz bzw. als Hydrochlorid zu gewinnen, ist in Spalte 3 der Tab. 5 jeweils die Konzentration angeführt, die sich theoretisch, d. h. unter der Annahme einer quantitativen Elution der betreffenden Fraktion, ergibt. Spalte 5 nennt — auf Grund einer Eichkurve — die Gesamtgiftkonzentration, welcher der gleiche Kehrwert der Reaktionszeit (Spalte 4) zukommt.

Tabelle 5. *Hyaluronidaseaktivität der elektrophoretischen Fraktionen von Bienen-Gesamtgift.*

Elektrophorese bei p_H	Fraktion	Theoretische Konzentration	Aktivität (Kehrwert der Reaktionszeit)	Entspricht Gesamtgift-	
				Konzentration	Aktivität
1	2	3	4	5	6
7,0	F I	etwa 1 : 2500	0,01	1 : 500 000	etwa 0,5%
	F II	etwa 1 : 80 000	0,07	1 : 83 300	etwa 96%
2,0	F 0	etwa 1 : 20 000	< 0,0001	—	< 0,1%
	FI+FII	etwa 1 : 2200	< 0,016	etwa 1 : 1 000 000	etwa 0,2%

Wie Tab. 5 zeigt, findet sich die viscositätssenkende Wirkung des Gesamtgiftes nur in F II wieder, während F I nur eine unwesentliche, zwanglos durch Verunreinigungen mit Spuren von F II erklärliche Aktivität besitzt. Erfolgt die Elektrophorese bei p_H 2,0, so ist F 0 völlig inaktiv — die Auslaufgeschwindigkeit änderte sich bei dem angeführten Versuch innerhalb 1 Std nicht —, das Ferment findet sich in der bei diesem p_H gemeinsam laufenden Zone F I + II, die noch eine deutliche, aber insgesamt durch die Säure stark verminderte Aktivität aufweist.

Besprechung.

Die geschilderte papierelektrophoretische Auftrennung von rohem oder vorgereinigtem Bienengift gestattet, wie wir an anderer Stelle schon kurz mitteilten (NEUMANN, HABERMANN u. AMEND; HABERMANN, 1, 3;

NEUMANN, 2) eine Zuordnung der pharmakologischen und fermentativen Wirkungen des Giftes zu bestimmten Bestandteilen. Von diesen ist das Histamin bereits längere Zeit bekannt. Unsere papierelektrophoretisch aus „Pikratgift“ erhaltenen Fraktionen F 0, F I und F II sind Eiweißkörper. Analoge Fraktionen F I und F II sind inzwischen von F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN auch auf chromatographischem Wege gewonnen worden, und diese Autoren haben u. a. festgestellt, daß F I auffallenderweise im Gegensatz zu F II keine schwefelhaltigen Bausteine enthält; F. G. FISCHER u. H. DÖRFEL haben in F I 13 Aminosäuren gefunden und quantitativ bestimmt, in F II außerdem noch Phenylalanin, Tyrosin, Histidin, Cystin (bzw. Cystein) und Methionin.

Der Fraktion F I des „Pikratgiftes“ kommt die allgemeintoxische, die lokal reizende und die direkt-hämolyisierende Wirkung des Giftes zu, ferner seine Kontrakturwirkung am isolierten Skelet- und Herzmuskel und am isolierten Meerschweinchendarm; an geeigneten Präparaten von Froschsartorius oder Meerschweinchendarm läßt sich das Eintreten von Tachyphylaxie gegenüber F I nachweisen. Durch weitere Untersuchungen (vgl. HABERMANN, 3) konnten auch Blutdruckeffekte, Wirkungen auf Gefäßpräparate, „curareartige“, ganglienerregende und -blockierende Eigenschaften des Pikratgiftes dieser Fraktion zugeordnet werden. Sie repräsentiert also eine Vereinigung von pharmakologischen Wirkungen im engeren Sinne. Diese haben aber nach den Feststellungen von F. G. FISCHER mit W. P. NEUMANN u. H. DÖRFEL im Gegensatz zu gelegentlich vertretenen Hypothesen nichts mit Schwefel-, Phenol- oder Imidazolgruppen der Giftmolekel zu tun.

Von ganz anderer Art sind die Wirkungen der Fraktion II, welche 2 sehr aktive Fermente, eine Phospholipase A und eine Hyaluronidase, enthält. Der Phospholipase des Bienengiftes fehlen eigentliche pharmakologische Wirkungen. Sie hat für sich allein, ähnlich wie Phospholipase A anderer Herkunft nach Versuchen von GRONCHI, keine oder nur eine sehr geringe allgemein-toxische Wirkung. Das Ferment kann aber auf dem Umwege über die Bildung von Phospholipoid-Spaltprodukten vom Typ des Lysocithins biologische Wirkungen auslösen, z. B. gewaschene Erythrocyten in Gegenwart von Lecithin *indirekt* hämolyisieren. Über das Zusammenwirken von Fraktion I und II können einstweilen nur wenige Angaben gemacht werden. Deutlich ist ein Synergismus bei der *direkten*, durch Fraktion I erzeugten Hämolyse gewaschener Blutkörperchen; die relativ flache Dosis-Wirkungs-Kurve der Fraktion I richtet sich bei Mitwirkung von Fraktion II steil auf, die Hämolyserate schwillt an.

Auf der Phospholipase beruhen, wie wir in weiteren Mitteilungen belegen werden, einige in den letzten Jahren bekannt gewordene Bienen-gifteffekte, die Hemmung der Hitzekoagulation von Eidotter, der Abbau von Thrombokinase und eine Minderung der Bernsteinsäuredehydrierung.

Nebenbei ist aus unseren Beobachtungen zu schließen, daß bestimmte Phospholipoidoide vom Lecithin-Kephalin-Typus sowohl bei der Thrombokinase als auch bei dem Bernsteinsäure dehydrierenden Fermentsystem eine ausschlaggebende Rolle spielen (NEUMANN, 1; HABERMANN, 1, 2), was ebenso aus Befunden von QUASTEL u. BRAGANCA, BRAGANCA u. QUASTEL sowie von MACFARLANE hervorgeht, die unabhängig von uns und gleichzeitig mit uns einige tierische oder bakterielle Gifte untersucht haben.

Die Hyaluronidase der Fraktion II dürfte die lokale Ausbreitung von Fraktion I sowie der Phospholipase und das Eindringen dieser beiden ins Gefäßsystem erleichtern. Fraktion 0 ist bisher ohne pharmakologische Bedeutung.

Das von uns untersuchte Bienen-Gesamtgift ist ein Komplex, der sich schon durch Papierelektrophorese in mindestens 8 verschiedene Fraktionen zerlegen läßt. Die Zahl der Bestandteile ist aber sicher noch höher, besteht doch die auf dem Papier gut abgegrenzte, scheinbar einheitliche Fraktion II sicher aus mindestens 2 Faktoren. Bei Fraktion I ist die Frage der Einheitlichkeit noch offen und damit auch die weitere Frage, ob die hier vereinigten pharmakologischen Wirkungen einem einzigen oder einer Gruppe von gemeinsam gewanderten Wirkstoffen zukommen. Es wäre auch denkbar, daß ein bestimmter Eiweißkörper mit verschiedenen Wirkgruppen oder Co-Substanzen unterschiedliche Effekte hervorrufen könnte. In diesem Zusammenhang fällt auf, daß die elektrophoretische und die chromatographische Fraktion I bei der direkten Hämolyse nach Form und Lage der Dosis-Wirkungs-Kurve weitgehend übereinstimmen, obgleich die chromatographische Fraktion von wesentlich höherer Allgemeintoxizität ist.

Bei der Erörterung der Wirkungen tierischer Gifte werden vielfach Begriffe wie Hämolysin, Neurotoxin, Koagulin usw. ohne nähere Koordinierung mit bestimmten anderen Wirkungen oder sonstigen Eigenschaften gebraucht. Die manchmal recht unkritische Verwendung solcher Begriffe führt leider nicht selten eine nicht unbeträchtliche Verwirrung herbei. Wir möchten es daher vermeiden, in der Fraktion I des Bienengiftes hypothetisch ein „Hämolysin“ und ein „Neurotoxin“ zu unterscheiden, obwohl manches gegen ihre Einheitlichkeit spricht. Es wäre auch verfehlt, Analogien zu Schlangengiften aufzustellen; sie können stark „neurotoxisch“ wirken, aber ihre direkt-hämolysierende Wirkung ist meist nur sehr schwach, obwohl ihre Phospholipase ein indirektes „Hämolysin“ darstellt. Gewisse Ähnlichkeiten in der Wirkung von Schlangen- und Insektengiften dürfen auch nicht darüber hinwegtäuschen, daß es sich selbst bei ihren pharmakologisch und biochemisch nahe verwandten Komponenten um mindestens physikalisch-chemisch sehr verschiedene Substanzen handelt; z. B. setzt Fraktion I die Ober-

flächenspannung von Wasser viel stärker herab als alle bisher daraufhin untersuchten Schlangengifte (HABERMANN, 3). Weitere eigene Untersuchungen in dieser Richtung werden später mitgeteilt werden.

Bei Schlangengiften wurde wiederholt versucht, die pharmakologische Wirkung ausschließlich oder doch weit überwiegend als Resultante rein fermentativer Effekte aufzufassen. Beim Bienengift besteht diese Möglichkeit nach unseren Untersuchungen nicht. Zwar haben wir auch hier sicher mit starken Fermenten zu rechnen, müssen aber gleichzeitig betonen, daß die Fraktion I bisher nur rein pharmakologische, in keinen Zusammenhang mit einer direkten Fermenttätigkeit zu bringende Wirkungen zeigt. Diese Fraktion repräsentiert also — unabhängig von der Frage ihrer chemischen Einheitlichkeit — immer noch ein „Toxin“ im klassischen Sinne, das sich von den Fermenten des Giftes eindeutig abgrenzen läßt.

Zusammenfassung.

Bienengift, das über eine Pikrinsäurefällung gereinigt wurde, liefert bei der Papierelektrophorese bei p_H 7 mindestens 3 kathodisch wandernde Fraktionen von Eiweißnatur. Bei p_H 2 wandern I und II gemeinsam, 0 wesentlich schneller. Über Elution und anschließende Pikrinsäurefällung können Fraktion I und II als Hydrochloride dargestellt werden.

Die Elektrophorese des frischen Sekrets einzelner Giftdrüsen oder einer Lösung von getrocknetem Nativgift läßt neben den genannten Fraktionen eine sich wie Histamin verhaltende Substanz und noch 2 andere kathodisch wandernde, mit Ninhydrin färbbare Komponenten erkennen; zur Anode läuft ein ebenfalls mit Ninhydrin färbbarer Bestandteil neben einem weiteren, der den durch Ninhydrin diffus gebräunten Streifen entfärbt.

Fraktion 0 scheint pharmakologisch ohne Bedeutung zu sein.

Fraktion I wirkt allgemein-toxisch, lokal reizend und direkt-hämolytisch. Sie erzeugt am Skelet- und Herzmuskel ebenso wie an der glatten Muskulatur Kontraktur, beeinflußt Blutdruck und Gefäßpräparate und hat „curareartige“, ganglienerregende und -blockierende Eigenschaften, vereinigt also zahlreiche pharmakologische Wirkungen; die Frage der chemischen Einheitlichkeit dieser Komponente ist noch offen. Sie scheint bei gleicher hämolytischer Wirksamkeit weniger toxisch zu sein als die inzwischen von F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN chromatographisch erhaltene Fraktion I.

Fraktion II besteht aus mindestens 2 Fermenten, einer Phospholipase A und einer Hyaluronidase, denen eine direkte pharmakologische

Wirkung fehlt. Die Phospholipase kann aber auf dem Umwege über die von ihr aus Phospholipoiden gebildeten Lysophospholipide biologisch wirksam werden, z. B. die direkte Hämolyse durch Fraktion I verstärken. Auf der Phospholipase A beruhen fermentative Bienengifteffekte wie die Hemmung der Hitzeagulation von Eigelb, der Abbau von Thrombokinase und die Minderung der Bernsteinsäuredehydrierung.

Die pharmakologisch-toxikologische Wirkung des Bienengiftes kann nicht, wie es bei Schlangengiften versucht worden ist, ausschließlich oder überwiegend auf die vorhandenen Fermente bezogen werden. Sie beruht weitgehend auf der fermentativ offenbar unwirksamen Fraktion I, die als „Toxin“ im klassischen Sinne aufzufassen ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Sachbeihilfen.

Literatur.

- ACKERMANN, D., u. H. MAUER: Arch. f. Physiol. **247**, 623 (1944). — BELFANTI, S.: Biochem. Z. **154**, 148 (1924). — BOQUET, P., M. DWORETZKY u. H. E. ESSEX: Amer. J. Physiol. **161**, 561 (1950). — BRAGANCA, B. M., u. I. H. QUASTEL: Biochemic. J. **53**, 88 (1953). — CHAIN, E., u. E. S. DUTHIE: Brit. J. Exper. Path. **21**, 324 (1940). — DELEZENNE, C., u. E. FOURNEAU: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **15**, 421 (1914). — zit. nach Chem. Cbl. **85**, II, 52 (1914). — DURAN-REYNALS, F.: Science (Lancaster, Pa.) **83**, 286 (1936). — Bacter. Rev. **6**, 197 (1942). — DYCKERHOFF, H., u. R. MARX: Z. exper. Med. **113**, 194 (1944). — FASSBENDER, W.: Biochem. Z. **317**, 246 (1944). — FELDBERG, W., u. C. H. KELLAWAY: Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. **15**, 461 (1937). — FISCHER, F. G., u. H. DÖRFEL: Biochem. Z. **324**, 465 (1953). — FISCHER, F. G., u. W. P. NEUMANN: Biochem. Z. **324**, 447 (1953). — FLECKENSTEIN, A., u. B. FETTIG: Z. Naturforsch. **6b**, 213 (1951). — FLECKENSTEIN, A., u. O. FETTIG: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 415 (1952). — FLECKENSTEIN, A., u. W. JAEGER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 163 (1952). — FLECKENSTEIN, A., H. TIPPELT u. H. KRONER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — FLURY, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **85**, 319 (1920). — GIBIAN, H.: Z. physiol. Chem. **289**, 1 (1952). — GLICK, D.: Techniques of Histo- and Cytochemistry, New York 1949. — GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952). — GRONCHI V.: Sperimentale **90**, 262 (1936). — HABERMANN E. (1): Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 108 (1953). — HABERMANN E. (2): Ber. ges. Physiol. **162**, 366 (1954). — HABERMANN E. (3): Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — HABERMANN E., W. MÜLLER u. A. SCHREGLMANN: Arzneimittel-Forsch. **3**, 30 (1953). — HAHN G., u. H. OSTERMAIER: Ber. dtsh. chem. Ges. **69**, 2407 (1936). — HAVEMANN, R., u. K. WOLFF: Biochem. Z. **290**, 354 (1937). — HOFMANN, H. TH. (1): Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 523 (1952); **216**, 201 (1952). — HOFMANN, H. TH. (2): Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 250 (1952). — LANGER, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **38**, 381 (1897). — LAUTER, W. M., u. O. I. GRIGGS: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **28**, 519 (1939). — zit. nach Ber. ges. Physiol. **119**, 172 (1940). — MACFARLANE, M. G.: Biochemic. J. **47**, Proc. XXIX bis XXX (1950). — MADINAVEITIA, J., u. T. H. H. QUIBELL: Biochemic. J. **34**, 625 (1940). — MILLER, L. G., u. R. A. GOLDER: Arch. of Biochem. a. Biophysics **29**, 420 (1950). — MORGENROTH, J., u. U. CARPI: Berl. klin. Wschr. **1906**, 1424. — NAGAMITU, G.: Okayama-Igakkaï-Zasshi **47**, 3005 (1935); zit. nach Ber. ges. Physiol. **95**, 128 (1936). — NEHER, R., u. A. WETTSTEIN: Helvet. chim. Acta **34**, 2278 (1951);

35, 276 (1952). — NEUMANN, W. (1): Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — NEUMANN, W. (2): Naturwissenschaften (im Druck). — NEUMANN, W., u. E. HABERMANN: Z. physiol. Chem. (im Druck). — NEUMANN, W., E. HABERMANN u. G. AMEND: Naturwissenschaften **39**, 286 (1952). — NEUMANN, W., E. HABERMANN u. H. HANSEN: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 130 (1953). — QUASTEL, I. H., u. B. M. BRAGANCA: Federat. Proc. **11**, 272 (1952). — REINERT, M.: Festschr. E. BARELL, Basel 1936, S. 407. — RICHTER, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 172 (1938). — SCHOETENSACK, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 107 (1953). — SCHOETENSACK, W., u. S. SEIFERT: Unveröffentl. Versuche. — TETSCH, CHR., u. K. WOLFF: Biochem. Z. **288**, 126 (1936). — WERLE, E., F. TURTUR u. R. BAUEREIS: Biochem. Z. **319**, 337 (1949). — ZELLER, E. A.: in Sumner-Myrbäck, The Enzymes, I, 2; S. 986 (New York 1951).

Prof. Dr. Dr. W. NEUMANN, Pharmakol. Inst. d. Univ. Würzburg, Koellikerstr. 2.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. KUSCHINSKY).

Der Einfluß von BAL, Methionin und Cystin auf die Schilddrüsenhyperplasie nach kurzfristiger Gabe von Methylthiouracil.

Von

W. FÖRSTER und E. MUSCHOLL.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Januar 1954.)

1949 zeigten ASCHKENASY u. Mitarb., daß Cystin, Methionin oder Cholin die Veränderungen beeinflussten, die nach Verabreichung von Thioharnstoff an den Schilddrüsen von Ratten auftraten.

Nach 10tägiger Behandlung mit Thioharnstoff wies das Schilddrüsenepithel eine starke Höhenzunahme auf, die durch gleichzeitige Verabreichung von Cystin verhindert, durch Cholin abgeschwächt und durch Methionin nicht beeinflusst wurde. Während der Aktivitätsgrad der Schilddrüse bei 30tägiger Zugabe von Cystin oder Methionin zu Thioharnstoff nicht mehr verringert wurde, vermochte doch Methionin die Gewichtssteigerung der Schilddrüse durch Thioharnstoff zu hemmen. Cystin übte keine solche „Schutzwirkung“ aus. Methioninzugabe verminderte auch die bei 103tägiger Verabreichung von Sulfadiazin auftretende Vergrößerung der Schilddrüse.

ASCHKENASY machte 1949 für den „Schutzeffekt“ die in den wirksamen Substanzen enthaltenen CH_3 - und SH-Gruppen verantwortlich, auf Grund neuerer Untersuchungen (1951) jedoch nur die SH-Gruppen. Unter diesem letzteren Gesichtspunkt begannen wir 1950 unsere eigenen Untersuchungen¹ und bezogen in eine Versuchsreihe mit 4-Methyl-2-thiouracil (MTU) außer Cystin und Methionin auch BAL (2,3-Dithio-*propanol*) als wirksamen SH-Gruppen-Donator ein. Es gelang in einem 16tägigen Experiment, den „MTU-Kropf“ durch Zugabe der genannten Substanzen zu hemmen, ohne die Stoffwechselsenkung zu verringern².

Methodik.

Zur Beurteilung der funktionellen und strukturellen Veränderungen der Schilddrüse untersuchten wir Stoffwechsel, Schilddrüsengewicht- und -histologie. Für den im Oktober 1950 durchgeführten Versuch benutzten wir männliche Albinoratten (Anfangsgewicht 80—130 g), die in 9 gleichartige Gruppen zu je 7 Tieren eingeteilt wurden. Die Ratten erhielten Körner, Küchenabfälle und Wasser *ad libitum*. Die Stoffwechselbestimmungen wurden mit der Apparatur nach HECHT durchgeführt,

¹ Ausführliche Darstellung der Versuchsergebnisse siehe MUSCHOLL.

² Ein Teil der Ergebnisse wurde auf der 18. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft in Mainz vorgetragen (FÖRSTER, 1952b).

die Kohlensäure nach WINKLER titriert. Jede Stoffwechseluntersuchung wurde durch eine 30 min dauernde Vorperiode eingeleitet. Dann erfolgten im Abstand von je 20 min 3—5 Bestimmungen. Die Temperatur des Wasserbades betrug 27° C (HERRINGTON). Die Stalltemperatur schwankte zwischen 19 und 24° C. 14—20 Std vor der Stoffwechselbestimmung wurde den Tieren das Futter entzogen.

Nach LUNDHOLM ist die Streuung der Stoffwechselwerte bei gemeinsamer Untersuchung mehrerer Tiere kleiner als bei Bestimmungen am Einzeltier. Die Größe der Luftumwälzung in unserer Apparatur begrenzte die Zahl der gleichzeitig zu untersuchenden Ratten auf 7. Die ermittelten Stoffwechselwerte (cal/min/Ratte) wurden mit Hilfe der Oberflächenformel $O = 9,0 \sqrt[3]{\text{Gewicht}^2}$ (O in cm^2 , Durchschnittsgewicht der Ratten in g) auf $\text{Cal}/\text{m}^2/24 \text{ Std}$ umgerechnet (HERRINGTON). Nachdem die Tiere an die Apparatur gewöhnt waren, führten wir in mehrstäglichem Abstand 3 Stoffwechselbestimmungen durch (Vorversuche). Nach Behandlungsbeginn wurden die Ratten 1—3mal wöchentlich untersucht. Die Auswertung der Stoffwechselergebnisse erfolgte mit der Covarianzanalyse nach BONNIER u. TEDIN in der von uns beschriebenen Weise (FÖRSTER, 1952).

Zu Abschluß des Versuches wurden die Tiere in Äthernarkose durch Entbluten getötet, die Schilddrüsen auf einer Torsionswaage gewogen und nach Formolfixierung mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Für die statistische Sicherung der Unterschiede im Schilddrüsengewicht benutzten wir die Varianzanalyse (SNEDECOR). Die Beurteilung des histologisch faßbaren Zustandes der Schilddrüse erfolgte nach den mit dem Okularmikrometer gemessenen Epithelhöhen sowie der Follikel- und Kolloidbeschaffenheit¹.

Die Substanzen (100 mg/kg MTU „Herbrand“², 3 g/kg l-Cystin „Pharmazell“² und 3 g/kg d,l-Methionin „Homburg“²) wurden in 0,9% NaCl-Lösung suspendiert täglich mit einer starren Magensonde verabreicht. 1 ml der Lösung enthielt die für 100 g Ratte bestimmte Dosis. Eine Kontrollgruppe erhielt täglich 2 ml/100 g einer 0,9%igen NaCl-Lösung, da den mit 2 Substanzen behandelten Tieren dasselbe Volumen verabreicht wurde. BAL (Sulfactin „Homburg“²) wurde in einer Dosis von 15 mg/kg in Olivenöl verdünnt (0,3 ml/100 g) i.m. injiziert. 7 Ratten erhielten die gleiche Menge Olivenöl i.m. Bei dieser Kontrollgruppe nahmen wir keine Stoffwechselbestimmungen vor, sondern untersuchten nur Gewicht und histologisches Aussehen der Schilddrüse.

Ergebnisse.

Der Stoffwechsel der Kontrollgruppen wurde wegen eines anderen, gleichzeitig durchgeführten Experimentes bis zu 64 Tagen fortlaufend untersucht (Abb. 1). Die Verabreichung von BAL führte gegenüber der von NaCl-Lösung zu etwas erhöhten Stoffwechselwerten; jedoch ist der

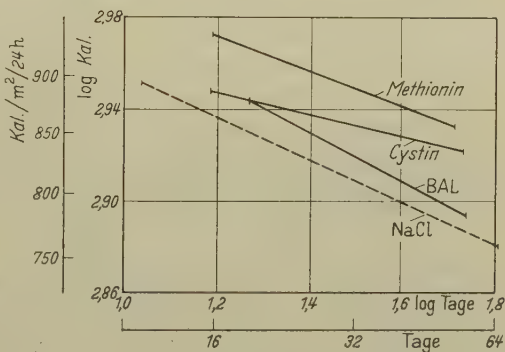


Abb. 1. Stoffwechselregressionslinien der Kontrollgruppen. Ordinate: $\text{Cal}/\text{m}^2/24 \text{ Std}$, Abszisse: Behandlungstage, beides in logarithmischer Auftragung.

¹ Durchgeführt durch Herrn Dr. W. CHRISTMANN, jetzt Kaiserslautern.

² Wir möchten an dieser Stelle den Firmen für die Überlassung der Präparate unseren Dank aussprechen.

Unterschied nicht signifikant ($P > 0,05$). Die Behandlung mit Methionin oder Cystin verursachte dagegen eine signifikante Stoffwechselsteigerung

Tabelle 1. *Durchschnittliches Gewicht und histologisches Bild der Schilddrüsen der Kontrollgruppen.*

Behandlung	Schilddrüsengewicht in mg/100 g	Epithelhöhe der Schilddrüsen	Vorkommen kolloid- reicher Follikel in %
0,9%ige NaCl-Lösung . .	5,6	flach	89
BAL	5,0	kubisch	50
Methionin	5,5	flach-kubisch	92
Cystin	5,3	kubisch	26

($P < 0,001$). Die Schilddrüsengewichte wurden unter dem Einfluß von Cystin, Methionin oder BAL nicht verändert: Bei Vergleich mit dem Schilddrüsengewicht der NaCl-behandelten Gruppe ist P jeweils $> 0,2$.

Histologisch zeigte sich jedoch bei der Einwirkung von BAL oder Cystin eine deutliche Aktivierung der Schilddrüse (Tab. 1). Diese Befunde sind allerdings nach 50—64 tägiger Behandlung gewonnen, so daß sie sich nur mit dem Stoffwechsel, nicht mit den histologischen Ergebnissen des nur 16 Tage dauernden Hauptversuches vergleichen lassen.

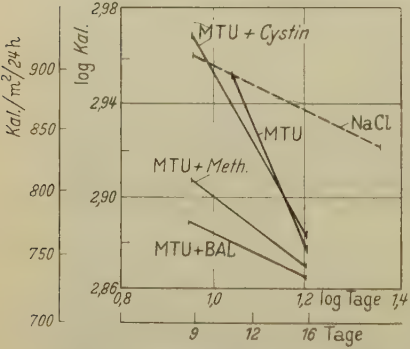


Abb. 2. Stoffwechselregressionslinien der mit MTU und zusätzlich mit BAL, Methionin und Cystin behandelten Gruppen. Ordinate: $\text{Cal}/\text{m}^2/24 \text{ Std}$, Abszisse: Behandlungstage, beides in logarithmischer Auftragung.

Abb. 2 gibt die Stoffwechselregressionslinien der MTU-behandelten Ratten sowie der Tiere wieder, die zusätzlich zu MTU noch Cystin, Methionin oder BAL erhielten. Alle Gruppen, denen MTU verabreicht wurde, wiesen gegenüber den NaCl-behandelten Tieren eine signifikante

Stoffwechselsenkung auf (Tab. 2). Die unter dem Einfluß von MTU + BAL und MTU + Methionin auftretende Stoffwechselsenkung setzte aber früher ein, als die durch MTU bzw. MTU + Cystin hervorgerufene.

Tabelle 2. *Statistische Sicherung des Abstandes der Stoffwechsel-Regressionslinien mit Hilfe der P-Werte.*

Bezugsgruppe behandelt mit	Behandlungsart der verglichenen Gruppen			
	MTU	MTU + BAL	MTU + Methionin	MTU + Cystin
0,9%ige NaCl-Lösung .	$P < 0,01$	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,01$
MTU	—	$P < 0,001$	$P < 0,01$	$P > 0,2$

Dieser Befund konnte statistisch gesichert werden. Die Zugabe von Cystin beeinflusste das Stoffwechselverhalten der MTU-behandelten Tiere nicht. Die Steigerung der Schilddrüsen Gewichte durch MTU-Behandlung wurde unter dem Einfluß von BAL signifikant vermindert ($P < 0,01$), während die Zugabe von Methionin den „MTU-Kropf“ mit „Wahrscheinlichkeit“ verringerte ($P = 0,05-0,01$). Cystin besaß keinen sicheren Einfluß. Histologisch ergab sich bei zusätzlicher Verabreichung von BAL oder Cystin eine Verstärkung, bei Methioninzugabe aber eine Hemmung der durch MTU hervorgerufenen Aktivitätssteigerung der Schilddrüse (Tab. 3).

Tabelle 3. *Durchschnittliches Gewicht und Epithelhöhe der Schilddrüsen bei MTU- und zusätzlicher Behandlung mit BAL, Methionin und Cystin.*

Behandlung	Schilddrüsengewicht in mg/100 g	Epithelhöhe der Schilddrüse
MTU	21,4	kubisch bis zylindrisch
MTU + Methionin	15,8	kubisch
MTU + BAL	14,7	zylindrisch
MTU + Cystin	18,9	zylindrisch

Diskussion.

Nach GRAHAM erhöht die 14tägige Zufuhr großer Dosen (50 mg/kg) von BAL das Schilddrüsengewicht junger Ratten. Die Gewichtssteigerung umgingen wir durch unsere geringere Dosierung (15 mg/kg), fanden aber in Übereinstimmung mit KENSLEY u. ELSNER eine deutliche Zunahme der Epithelhöhe. Trotz der histologisch angedeuteten anti-thyreoiden Wirkung trat keine Veränderung des Stoffwechsels ein. Demgegenüber verursachte die subakute Gabe von Methionin oder Cystin eine signifikante Stoffwechselsteigerung, die durch die abnorm hohe Zufuhr der Aminosäuren rein extrathyreoidal bedingt sein dürfte. Die Schilddrüsen Gewichte wurden bei der Behandlung mit Cystin oder Methionin nicht verändert, jedoch steigerte Cystin die Aktivität der Schilddrüse. Von den 3 untersuchten Substanzen hat also Methionin den geringsten direkten Einfluß auf die Schilddrüse.

Bei Verabreichung von 100 mg/kg MTU setzte die Stoffwechselsenkung erst nach einer deutlichen, statistisch gesicherten Latenzzeit von etwa 8 Tagen ein. Dieses Verhalten konnten wir in vielen Versuchen zu verschiedenen Jahreszeiten beobachten (FÖRSTER, unveröffentlichte Versuche, MUSCHOLL). Anscheinend reichte bei unseren Ratten der Thyroxinvorrat im Schilddrüsenkolloid aus, um noch mindestens 8 Tage eine normale Stoffwechselhöhe zu gewährleisten.

Die Latenzzeit bis zum Eintritt der Stoffwechselsenkung durch MTU wurde bei Zugabe von BAL oder Methionin signifikant verringert.

Darüberhinaus trat eine „Schutzwirkung“ gegenüber der Ausbildung des „MTU-Kropfes“ auf, die bei BAL-Zugabe signifikant war. Während die Hemmung der MTU-bedingten Schilddrüsenvergrößerung bei Methioninzugabe statistisch nur „wahrscheinlich“ ist, wird die histologische Aktivierung der Schilddrüse weitgehend verringert. Der „Schutzeffekt“ von BAL gegenüber der MTU-Wirkung äußerte sich also im Schilddrüsengewicht, der von Methionin besonders in der histologischen Aktivität.

Zusammenfassung.

In einer 16tägigen Versuchsreihe wurde an Ratten der Einfluß von BAL (15 mg/kg), Methionin (3 g/kg) und Cystin (3 g/kg) auf die durch 100 mg/kg Methylthiouracil (MTU) hervorgerufenen Stoffwechsel-, Schilddrüsengewichts- und -aktivitätsänderungen untersucht. Folgende Ergebnisse konnten statistisch gesichert werden:

1. Die Latenzzeit bis zum Eintritt der Stoffwechselsenkung durch MTU (8 Tage) wurde durch Zugabe von Methionin oder BAL verkürzt. Cystin war ohne Einfluß.

2. Die nach 16 Tagen erreichte Stoffwechselsenkung war bei MTU- sowie der zusätzlichen Behandlung mit BAL, Methionin oder Cystin gleich groß.

3. Methionin- oder BAL-Zugabe verringerte das Ausmaß des „MTU-Kropfes“. Cystin ist darauf ohne Einfluß.

4. Methionin verminderte außerdem den Aktivitätsgrad der durch MTU stimulierten Schilddrüse, BAL und Cystin steigerten ihn.

Literatur.

- ASCHKENASY, A., u. G. J. ROLLAND: C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 641 (1949a). — ASCHKENASY, A., C. POLONOVSKI u. G. J. ROLLAND: J. de Physiol. **41**, 469 (1949b). — ASCHKENASY, A., u. G. J. ROLLAND: Ann. d'Endocrin. (Paris) **12**, 14 (1951). — BONNIER, E., u. O. TEDIN: Biologisk Variationsanalys, Stockholm (1940). — FÖRSTER, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **215**, 270 (1952a); **216**, 147 (1952b). — Unveröffentlichte Ergebnisse. — GRAHAM, J. D. P.: Biochemic. J. **43**, XXXII (1948). — HECHT, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **187**, 147 (1937). — HERRINGTON, L. P.: Amer. J. Physiol. **129**, 123 (1940). — KENSLE, CH. J., u. R. W. ELSNER: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **97**, 349 (1949). — LUNDHOLM, L.: Acta physiol. Scand. (Stockh.) **18**, 259 (1949). — MUSCHOLL, E.: Inaug.-Diss., Mainz (1952). — SNEDECOR, G. W.: Statistical methods. 4. Aufl. Iowa 1946. — WINKLER, C. L.: Zit. nach JANDER-JAHR: Maßanalyse, Sammlung Göschen. 1943.

Dr. W. FÖRSTER, Ludwigshafen/Rhein, Ebertstraße 1.

Dr. E. MUSCHOLL, Pharmakol. Inst., Mainz.

Über die Dosenschwelle osmotischer Reize.

Von

ELLEN BAERWOLFF und WOLFGANG HEUBNER*.

(Eingegangen am 20. Februar 1954.)

Die banale Erfahrung, daß oberflächliche Verletzungen bei Berührung mit Kochsalz viel stärker schmerzen als bei Berührung mit Rohrzucker, ließ die Vermutung aufkommen, es könnte bei der Reizung sensibler Nerven neben der osmotischen Konzentrationsdifferenz noch ein Effekt der elektrisch geladenen Teilchen im Spiele sein („ionic strength“). Die Vermutung war falsch, wie sich ergab; sie basierte auf oberflächlicher Ableitung ohne sorgfältige quantitative Überlegung: gleiche Gewichtskonzentration von Salz und Zucker entspricht ja einem nahezu 12fachen Unterschied der osmotischen Konzentration. Dennoch wurden die begonnenen Untersuchungen zu Ende geführt, weil sie bestimmte Daten ergaben, die unseres Wissens bisher noch nicht festgelegt sind.

Die Versuche liefen darauf hinaus, die *Grenze* der Konzentration zu ermitteln, wo Salz oder Zucker noch einen osmotischen Reiz ausüben. Als Test diente zunächst die subjektive Empfindung erwachsener Personen, denen solche Lösungen in den Bindehautsack eingeträufelt wurden. Zweitens wurde versucht, brauchbare Reaktionen an kleinen Fischen zu erhalten, die in solche Lösungen gesetzt wurden, so daß von empfindlichen Organen nicht nur die Cornea des Auges, sondern auch die Kiemen sofort berührt wurden; es zeigte sich jedoch, daß die Reaktion der Fische bei Grenzdosen eine sehr langsame war, so daß nichts übrig blieb, als ihre Lebensdauer zum Indicator des Effektes zu machen.

Außer Kochsalz und Rohrzucker wurden in beiden Versuchsreihen ähnliche Elektrolyte und Nichtelektrolyte erprobt.

I. Subjektive Empfindungsprüfung am Menschen.

Methodik: Als Versuchspersonen dienten 10 wohlbekannte zuverlässige Angehörige des Pharmakologischen Instituts, von denen die Hälfte Akademiker und die Hälfte (in anderer Verteilung) Frauen waren. Natürlich blieb ihnen die jeweils angewandte Lösung unbekannt. Stets wurden beide Augen mit körperwarmer 0,85%iger Kochsalzlösung einmal behandelt, danach in das eine Auge die gleiche Lösung erneut eingeträufelt, in das andere die zu prüfende, ebenfalls körperwarmer Lösung. Als Reizwirkung wurde die Angabe über „leichtes Brennen“, gelegentlich auch „Wärme-“ oder „Hitzegefühl“, seltener „Prickeln“ oder „Jucken“ im Versuchsauge gewertet. Gewöhnlich wurde von isotonischen Lösungen ausgegangen

* Frau Prof. HEDWIG LANGECKER zum 60. Geburtstag am 29. 1. 1954.

dann darauf die Konzentration in kleinen Stufen erhöht, bis die genannten Empfindungen geäußert wurden. An jeder Person wurde an einem Tag immer nur eine solche Versuchsreihe mit jeweils einer bestimmten Substanz ausgeführt. Als isosmotisch wurden folgende Konzentrationen in g% angenommen: NaCl: 0,85; KCl: 1,08; CaCl_2 : 1,07; MgCl_2 : 0,92; Saccharose: 9,95; Glucose und Mannit: 5,3. Im folgenden sind alle Konzentrationen auf diese Zahlen als jeweilige Einheit bezogen.

Die stark reizenden Salze der zweiwertigen Basen wurden zuerst an der Lippe geprüft; am Auge lag ihre reizende Schwellendosis *unter* der isosmotischen Konzentration.

Die erhaltenen Ergebnisse finden sich abgerundet auf Tab. 1 zusammengestellt. Die Zahlen geben die Prozentzahl der Versuche an, in denen eine erkennbare Reiz-Sensation (in der aufsteigenden Konzentrationsreihe) zum ersten Male angegeben wurde.

Tabelle 1. Zahl der positiven Reizempfindungen in % der geprüften Versuchspersonen.

Substanz	Zahl der Versuche	Osmotische Konzentration					
		1,25	1,5—1,7	1,9—2,1	2,3—2,5	3,0	3,8
RINGER-Lösung	10	0	10	50	40	—	—
NaCl	18	6	11	60	17	—	6
KCl	10	10	20	10	—	20	40
Glucose	17	0	17	17	59	7	—
Mannit	10	0	10	50	40	—	—
Saccharose . . .	10	40	40	10	—	10	—
	—	0,26	0,33	0,41	0,51	0,64	—
CaCl_2	10	0	0	10	70	20	—
MgCl_2	10	40	10	50	—	—	—

Die Tabelle zeigt sehr gute Übereinstimmung der osmotischen Wirkungsgrenze für RINGER-Lösung, Kochsalz und Mannit; ein entschiedener osmotischer Reiz zeigt sich in der Überzahl der Fälle erst bei einer Erhöhung der Konzentration auf das Doppelte der normalen. Auch Glucose ordnet sich wohl noch leidlich ein, wenn auch eine geringfügige Abschwächung des Effektes herausgelesen werden könnte. Sicher stärker wirksam ist Saccharose. Bei Kalium überwiegen die individuellen Differenzen, was wohl mit der anaesthetischen Wirkung des Kaliumions zusammenhängen dürfte. Ein durchgehender und wesentlicher Unterschied zwischen Elektrolyt und Nichtelektrolyt ergab sich also nicht! Calcium- und Magnesiumsalz wirkt sicher schädigend; dabei dürfte es sich kaum um eine reine Nerven-, vor allem aber um etwas anderes als eine osmotische Wirkung handeln.

An der Unterlippe wirkten (angewärmte) Lösungen von Kochsalz bei keiner der geprüften 7 Vp. in der 5fachen osmotischen Konzentration reizend; bei 4 Personen bezeichnete erst das 10fache, bei 2 Personen das 12,5fache, bei 1 Person das 17,5fache der isosmotischen Konzentration die Reizschwelle.

II. Lebensdauer von Fischen.

Methodik: Versuchstiere waren vorwiegend Weibchen von *Lebistes reticulatus* (oder *Guppy*), gelegentlich zum Vergleich solche von *Rhodeus amarus* (oder Bitterling). Die Versuche wurden im Frühjahr zur Paarungszeit vorgenommen, wo auch die Männchen von Bitterlingen an ihrem bunten Hochzeitskleid leicht erkannt und ausgeschaltet werden konnten. Von den Fischen gleichen Alters und gleicher Größe wurden jeweils 2 Exemplare in ein Gefäß mit 1 Liter Flüssigkeit gesetzt und unter genau gleichen Bedingungen gehalten. Die Temperatur blieb konstant bei 22°, der pH-Wert meist bei 6,0, zuweilen bei 6,6. Die Fütterung erfolgte stets zu gleicher Zeit mit gleichem Material in gleicher Menge. Wechsel der jeweiligen Flüssigkeit erfolgte jeden 2. Tag.

Unter diesen Bedingungen hielten sich zahlreiche Kontrolltiere in Leitungswasser während der Dauer der Versuche, nämlich 117 Tage lang ohne jeden Verlust.

Vorversuche.

Für die Prüfung etwaiger Unterschiede in der Resistenz der Tiere gegenüber Elektrolyt- und Nichtelektrolytlösungen bei erhöhter osmotischer Konzentration bedurfte es zunächst einiger Erfahrungen über dasjenige Milieu, in dem trotz einer etwas höheren osmotischen Konzentration als in gewöhnlichem Süßwasser eine möglichst lange Lebensdauer gewährleistet war. Zunächst versuchten wir uns dem Mineralstoffgehalt des Blutserums von Süßwasserfischen anzupassen, der nach den Analysen von J. PÜSCHEL in g% folgendermaßen zusammengesetzt ist:

Na	0,312
K	0,016
Ca	0,0119
Mg	0,0040
Cl	0,313
P	0,004

Da bei diesen Zahlen der 50%ige Überschuß basischer Äquivalente die Herstellung einer analogen Lösung aus Neutralsalzen unmöglich machte, erhöhten wir unter Erhaltung der übrigen Bestandteile den Chloridgehalt auf 0,53% Cl, so daß eine Lösung etwa gleicher Zusammensetzung und Konzentration entstand wie eine Säugetier-RINGER-Lösung. Sie enthielt in 100 cm³ folgende Salze:

0,79	g NaCl
0,031	g KCl
0,065	g CaCl ₂ + 6 H ₂ O
0,034	g MgCl ₂ + 6 H ₂ O
also insgesamt 0,87% gelöste Salze.	

In dieser Lösung lebten jedoch 2 Guppys im Mittel nur etwa 9 Tage (vgl. Tab. 2 I), also wesentlich kürzer als in Leitungswasser; in der *halben* Konzentration betrug die mittlere Lebensdauer 58 Tage, war also ausreichend, um als einigermaßen indifferente Kontrolle zu dienen. Eine Konzentration der Lösung in 1½facher Höhe der „Isosmie“ bewirkte keine weitere

Verkürzung der Lebensdauer, vielmehr betrug diese im Mittel von 2 Tieren 16 Tage (Tab. 2 I). Weiterhin prüften wir eine Lösung, in der gegenüber dem Natrium der Chloridgehalt um 0,047% (oder 0,013 Mol je Liter) vermindert war. Dies geschah unter entsprechender Verminderung der Kochsalzkonzentration durch Zusatz von Natriumbikarbonat und tägliche langsame Durchströmung mit einem 20% CO₂ und 80% Sauerstoff enthaltenden Gasgemisch für etwa 8 Std. Der p_H-Wert bewegte sich dabei ungefähr um 6,6, während er für Leitungswasser etwa 6,0 betrug. Höherer CO₂-Gehalt oder Dauerdurchströmung mit 20% führten zu rascher Schädigung. Bei diesem Verfahren überlebten die beiden geprüften Tiere im Mittel 43 Tage (Tab. 2 II). Offenbar war das Äquivalentverhältnis des Natriums zum Chlorid doch von Bedeutung.

Bemerkenswert war eine durch Chromatophorenausbreitung eintretende netzförmige dunkle Zeichnung der Fischchen, sobald sie sich gestört fühlten (z. B. während Durchperlen des Kohlensäuregemisches) oder im Beginn ihres Absterbeprozesses standen.

Tabelle 2. *Lebensdauer von Fischen in Tagen.*
(Kontrollen in Leitungswasser 117 Tage beobachtet: kein Verlust.)

Tierart	Substanz	Faktor bezogen auf isosmotische Konzentration von Warmblüterblutplasma			
		0,5	1,0	1,5	2,0
I. Guppy	„RINGER“ p _H = 6,0	51	7	9	1
		65	11	24	4
II. Guppy	„RINGER“ mit NaHCO ₃ p _H = 6,6	—	26	—	—
		—	60	—	—
III. Guppy	0,85% NaCl	—	4	—	—
		—	4	—	—
IV. Guppy	Glucose p _H = 6,0	91	5	—	—
		91	46	—	—
V. Guppy	Glucose p _H = 6,6	91	6	1	—
		91	36	1	—
		—	—	2	—
		—	—	2	—
VII. Guppy	Saccharose p _H = 6,0	—	2	1	0,04
		—	3	1	0,22
		—	4	—	—
		—	5	—	—
VIII. Bitterlinge . . .	Glucose	—	2	—	—
		—	3	—	—
IX. Bitterlinge . . .	Saccharose	—	1	0,7	0,15
		—	1	0,7	0,17

Hauptversuche.

In den beschriebenen Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß bei p_H des Leitungswassers = 6,0 Salzlösung bereits in der Konzentration des Säugetierringers die Lebensdauer von Fischen um mehrere Wochen verkürzt, und daß die doppelte Konzentration nicht länger als wenige Tage

(oderauch nur Bruchteile eines Tages) ertragen wird, während die Hälfte der „isosmotischen“ Konzentration von 2 Tieren im Mittel 58 Tage überlebt wurde. Glucoselösung in annähernd gleicher osmotischer Konzentration (2,5%) war offenbar völlig harmlos, 4 Tiere ertrugen sie 3 Monate lang.

Eine doppelt konzentrierte, nahezu „isosmotische“ Glucoselösung von 5% wurde von einem Guppyweibchen 46, von einem zweiten 36 Tage vertragen, während allerdings 2 andere nach 5—7 Tagen starben. Die 1½fache Konzentration (7,5%) wurde 1—2 Tage ertragen.

Bitterlinge waren empfindlicher als Guppyweibchen. Sie gingen in isotonischer Konzentration nach etwa 2 Tagen, in der 1½fachen nach 18 Std zugrunde.

Saccharose war deutlich schädlicher als Glucose. Die isotonische Konzentration von 10% führte bei Guppyweibchen nach 2—5 Tagen, die 1½fache nach 1 Tage, die doppelte nach wenigen Stunden zum Tode, bei Bitterlingen in gleicher Reihenfolge (im Mittel) nach 21, 16 und 4 Std.

Es bestand also auch hier kein durchgehender oder überhaupt erheblicher Unterschied in den osmotischen Effekten von Elektrolyt- oder Nichtelektrolytlösungen. Die Erhöhung der osmotischen Konzentration um gewisse Stufen bewirkte in beiden Gruppen etwa gleich abgestufte Verkürzung der Lebensdauer.

Trotz dieser allgemeinen Folgerung lassen sich aus den Befunden Einzelheiten herausheben, die nicht ganz ohne Interesse sind: Obwohl der osmotische Schmerzreiz an den sensiblen Nerven der Cornea eine durchaus andersartige Reaktion darstellt, als das Absterben von Fischen im Laufe langer Zeiträume, war in den beiden Versuchsreihen übereinstimmend erkennbar, daß in bestimmter osmotischer Konzentration Glucose besser ertragen wird als indifferente Salzlösungen, daß dagegen für Saccharose das umgekehrte gilt.

In Testversuchen an Bitterlingen wurde die 5 und 10% ige Konzentration beider Zuckerarten verglichen mit 3,5% Glucose plus 0,5% Harnstoff, sowie 7% Saccharose plus 1% Harnstoff; in beiden Fällen war die Lebensdauer 6—7 mal so lang (im Mittel von je 2 Tieren: 306 gegen 53 und 140 gegen 21 Std). Ein Hinweis auf die Ursache des Unterschieds der Wirkung der beiden Zucker war daraus nicht zu entnehmen.

Zusammenfassung.

Hypertonische Lösungen von Salz- und Zuckerlösungen wurden im akuten Versuche am menschlichen Auge, im chronischen an kleinen Fischen auf osmotische Effekte quantitativ geprüft. Die wirksame Schwelle lag zwischen 1½- und 2facher Konzentration der Warmblüterisotonie.

Durchgreifende Unterschiede zwischen Elektrolyt und Nichtelektrolyt bestanden nicht.

Hypertonische Glucoselösungen wirken etwas schwächer, Saccharoselösungen stärker als physiologische Salzlösungen.

Prof. Dr. W. HEUBNER, Heidelberg, Ladenburger Straße 69.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Akademie für medizinische Forschung
und Fortbildung der Justus Liebig-Hochschule Gießen
(Direktor: Prof. Dr. F. HILDEBRANDT).

Zur Digitaliswirkung auf die neuromuskuläre Übertragung.

Von

ERIK WESTERMANN.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. November 1953.)

Die bisherigen Befunde über die Digitaliswirkung am Skelettmuskel haben übereinstimmend ergeben, daß Digitalisglykoside die „Muskelleistung“ steigern können (2, 10, 20, 21, 22, 29, 30, 35, 37, 41). Es ließ sich zeigen, daß der hypoxämische, quergestreifte Muskel auf Digitalisgaben grundsätzlich in gleicher Weise reagiert wie der Herzmuskel: auf elektrische Reizung erfolgt eine schnellere und stärkere Kontraktion und eine raschere, tiefere Erschlaffung.

Untersuchungen an Muskelproteinen sprechen dafür, daß es sich hierbei um Vorgänge an den contractilen Elementen des Muskels handelt (LENDLE). Daneben deuten eine Reihe von Befunden, u. a. elektro-physiologische Untersuchungen (TRAUTWEIN, TRAUTWEIN u. WITT), darauf hin, daß auch Membranwirkungen eine Rolle spielen. Es ist jedoch nicht eindeutig geklärt, ob diese Wirkungen im Sinne einer Depolarisierung der Membran oder im Sinne einer Stabilisierung des Membranpotentials aufzufassen sind.

Am indirekt gereizten Skelettmuskel führt *jede* stärkere Membranänderung zu einer Erschwerung der neuromuskulären Übertragung, die als Depression bzw. neuromuskulärer Block im Mechanogramm zu erkennen ist. FELDBERG teilt die neuromuskulär blockierenden Substanzen ein in solche, deren gemeinsames Wirkungsprinzip auf einer Stabilisierung des Membranpotentials beruht (z. B. d-Tubocurarin und *Flaxedil*) und solche, deren gemeinsame Wirkung eine Depolarisation der Membran ist (z. B. Acetylcholin, Succinylcholin und Decamethonium). Aus dem unterschiedlichen Wirkungsmechanismus dieser beiden Substanzgruppen ergibt sich, daß neuromuskulär blockierende Substanzen sich sowohl synergistisch als auch antagonistisch zueinander verhalten können.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, am isolierten, indirekt gereizten Skelettmuskel eine Membranwirkung der Digitalisglykoside zu erfassen. Durch Kombination mit den bekannten,

membranwirksamen Substanzen sollte weiterhin untersucht werden, ob diese Wirkung im Sinne einer Stabilisierung des Membranpotentials oder im Sinne einer Depolarisierung aufgefaßt werden kann.

Methodik.

Die Versuche wurden am Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Maus in der Anordnung nach BÜLBRING (1946) durchgeführt und die Badflüssigkeit mit O_2 durchperlt. Das Zwerchfell konnte sowohl direkt als auch indirekt gereizt werden; der N. phrenicus lag in einer Schnabelektrode 2 Platindrähten an, während der Muskel von 2 Platinstiften, die beiderseits der Muskelplatte parallel zueinander gelagert waren, quer durchströmt wurde. Die Stromstöße lieferte ein Rechteckimpulsgenerator. Die Impulsdauer betrug 1 msec, die Impulsintensität war supramaximal und die Reizfrequenz wurde zwischen 0,2 und 0,5 Hz variiert. Die Registrierung des Mechanogramms erfolgte teils in vorwiegend isotonischer Anordnung durch Hebelübertragung auf ein Rußkymographion, teils optisch in weitgehend isometrischer Anordnung. Bei der isometrischen Registrierung wurde eine gespannte Blattfeder, auf der ein Spiegel befestigt war, durch die Muskelkontraktion über einen kurzen Hebel torquiert. Durch Variation der Länge der Blattfeder oder des Hebelsarms konnte die Empfindlichkeit des Registriersystems beliebig verändert und die Spannungsentwicklung in Gramm geeicht werden. Eine Zu- oder Abnahme der Spannungsentwicklung kann, bezogen auf die Ausgangsleistung des Muskels, in Prozenten angegeben werden.

*Verwandte Substanzen**. g-Strophanthin (C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim) $1:10^3$ in 80% Äthanol, Digoxin (C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim) $1:10^3$ in 80% Äthanol, Digitoxin (Hoffmann la Roche A.G., Grenzach) $1:2 \times 10^3$ in 4% Methanol, Acetylcholin (Hoffmann la Roche A.G., Grenzach) $1:2 \times 10^2$ in Aqu. dest., Succinyl-bis-cholinchlorid (Dr. R. Reiss Chemische Werke, Berlin W.) $1:10^3$ in Aqu. dest., Decamethoniumjodid (Cassella Farbwerke, Ffm.) $1:10^3$ in Aqu. dest., d-Tubocurarinchlorid (Asta-Werke A.G., Brackwede) $1:10^4$ in Aqu. dest., 1,2,3-Tri-(β -triäthylammonium-äthoxy)-benzol-trijodid — Flaxedil (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim) $1:10^3$ in Aqu. dest., Physostigmin. salicylic. $1:10^3$ in Aqu. dest., Neostigmin-Methylsulfat = Prostigmin (Hoffmann la Roche A.G., Grenzach) $1:5 \times 10^3$ in Aqu. dest., Natriumtaurocholat (Bayer, Leverkusen) $1:10^3$ in Aqu. dest. und Testosteron (Testoviron T, Schering A.G., Berlin W.) $1:3 \times 10^2$ alkoholisch gelöst.

V Versuchsergebnisse.

1. g-Strophanthin (gSt). gSt wird der Badflüssigkeit in Konzentrationen von $1:10^7$ bis $1:10^4$ zugesetzt. Im Mechanogramm des direkt oder indirekt gereizten Muskels ist während 20 min Einwirkungszeit kein Effekt zu beobachten, gleichgültig ob die Registrierung in isotonischer oder weitgehend isometrischer Anordnung erfolgt.

2. g-Strophanthin und Acetylcholin (Ach). Hohe Ach-Dosen führen am Phrenicus-Zwerchfellpräparat zu einer Erschwerung der neuromuskulären Übertragung. Um einen partiellen neuromuskulären Block hervorzurufen, werden Ach-Konzentrationen zwischen $1:10^4$ und $1:10^3$ benötigt. Diese Depression ist sowohl in qualitativer als auch quantitativer

* Den genannten Herstellerfirmen sei an dieser Stelle für die Überlassung von Versuchsmengen gedankt.

Hinsicht ein gut reproduzierbarer Effekt. Vorher der Badflüssigkeit zugefügtes gSt verstärkt den Ach-Effekt, und zwar um so mehr, je höher die gSt-Konzentration ist und je länger sie vorher auf den Muskel einwirken kann.

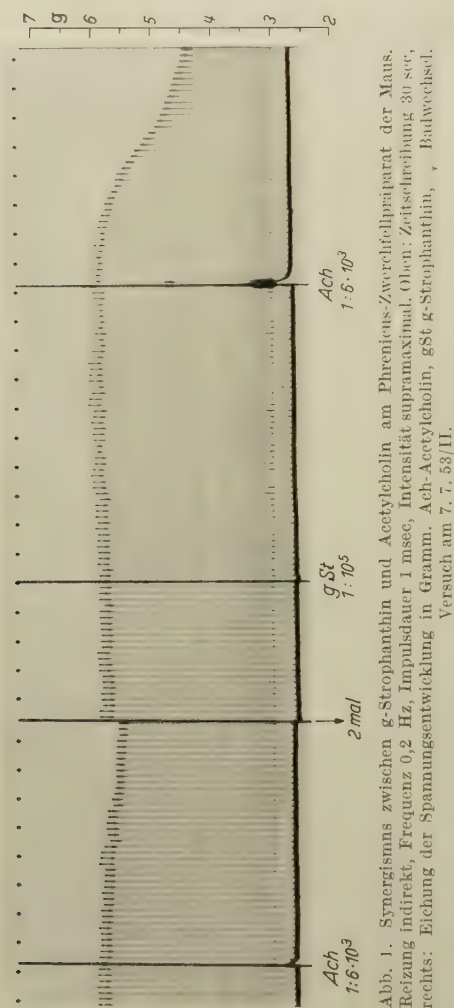


Abb. 1 zeigt, daß es auf Ach-Gabe ($1:6 \times 10^3$) zu einer geringen Depression kommt, die nach 4 min 13% beträgt. Nach 2 maligem Badwechsel erreicht die Spannungsentwicklung wieder ihren Ausgangswert. Durch gSt $1:10^5$ wird das Mechanogramm nicht sichtbar verändert. Wird jedoch dieser „unterschwelligen“ gSt-Dosis wieder Ach $1:6 \times 10^3$ zugefügt, dann ist die Depression nach 4 min mit 48% mehr als 3 mal so stark wie vor der gSt-Gabe. Nach 2 maligem Badwechsel ist dieser partielle Block voll reversibel. Die Depression auf Ach bleibt jedoch auch nach häufigem Badwechsel noch etwas verstärkt, da gSt schwerer auswaschbar ist als Ach.

3. g-Strophanthin und Succinylcholin (Sch). Die Sch-Wirkung auf die neuromuskuläre Übertragung ist etwa 100 mal stärker als die des Ach, wird aber durch Cholinesterasehemmstoffe — Neostigmin (Prostigmin) und Eserin — nicht beeinflusst. Die Depression durch Sch $1:10^6 - 1:10^5$ ist

ein leicht reversibler und gut reproduzierbarer Effekt und läßt sich durch vorherige, „unterschwellige“ gSt-Gabe deutlich verstärken. Mit Hilfe dieses Kombinationseffektes ist es auch möglich, das Einsetzen der gSt-Wirkung zeitlich zu erfassen, indem man gSt während einer gleichmäßig verlaufenden Sch-Depression der Badflüssigkeit zufügt und beobachtet, wann eine zusätzliche Depression auftritt.

Aus Abb. 2 ist zu ersehen, daß die Depression auf Sch $1:2,5 \times 10^5$ nach $3\frac{1}{2}$ min 46% beträgt. Bei weiterem gleichmäßigen Verlauf würde die Depression nach 7 min etwa 56% erreichen. Bei diesem Versuch wird nach $3\frac{1}{2}$ min gSt $1:10^5$ der Badflüssigkeit zugefügt. Die Depression wird sofort verstärkt und beträgt nach 7 min 69%. Beim anschließenden Badwechsel wird gSt $1:10^5$ wieder zugefügt, so daß bei gleichbleibender gSt-Konzentration nur das Sch ausgewaschen wird. Nach wenigen Minuten hat die Spannungsentwicklung des Muskels nahezu vollständig ihren Ausgangswert erreicht. Die gleiche Sch-Konzentration

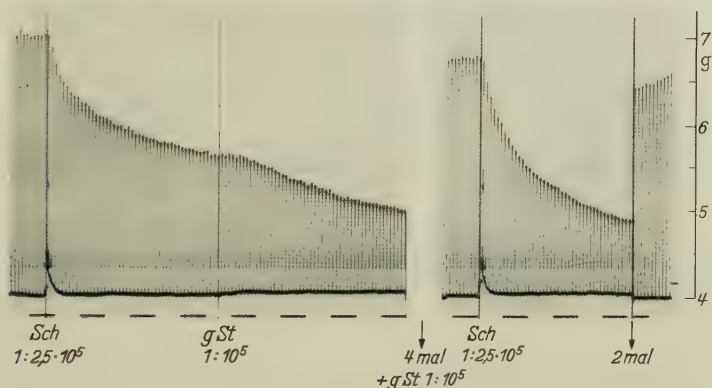


Abb. 2. Synergismus zwischen g-Strophanthin und Succinylcholin. Technik und Bezeichnungen wie auf Abb. 1, nur Frequenz 0,25 Hz. Als Zeitschreibung ist der unterste Registrierstrahl alle 30 sec genau so lange unterbrochen. Sch Succinylcholin. Versuch am 2. 6. 53/I.

($1:2,5 \times 10^5$) führt aber jetzt schon nach 3 min zu einer Depression um 69%, die nach 2maligem Badwechsel vollreversibel ist. Dieser Versuch zeigt, daß die gSt-Wirkung sofort einsetzt und an sich unwirksame gSt-Konzentrationen schon nach wenigen Minuten Einwirkungszeit die Sch-Depression um mehr als 50% verstärken.

4. *g-Strophanthin und Decamethonium* (C 10). C 10 bewirkt schon in relativ geringen Konzentrationen ($1:2 \times 10^5$ — $1:10^5$) eine im Mechanogramm sichtbare Erschwerung der neuromuskulären Übertragung. Diese Depression läßt sich durch vorherige gSt-Gabe deutlich verstärken. Auch eine allein unwirksame, „unterschwellige“ C 10-Gabe wird durch gSt soweit verstärkt, daß es zu einer Depression kommt.

Abb. 3 zeigt, daß die C 10-Gabe ($1:7 \times 10^5$) zu gering ist, um während der folgenden 3 min das Mechanogramm des indirekt gereizten Muskels sichtbar zu verändern. Wird jedoch der Badflüssigkeit jetzt gSt in allein unwirksamer Konzentration ($1:10^5$) zugefügt, dann kommt es sofort zu einer Depression, die nach 3 min 51% beträgt. Nach eumaligem

Badwechsel nimmt die Spannungsentwicklung wieder zu und hat im Laufe einer Minute den Ausgangswert erreicht.

5. *g-Strophanthin* und *d-Tubocurarin* (dTc). Am indirekt gereizten Zwerchfell führt dTc schon in relativ geringen Konzentrationen ($1:10^6$ bis $1:5 \times 10^5$) zu einem partiellen neuromuskulären Block, der gut reproduzierbar ist. Der Badflüssigkeit einige Minuten vorher zugefügtes gSt ist imstande, die dTc-Depression zu verhindern. Es ist auch möglich, einen bereits aufgetretenen, partiellen dTc-Block durch gSt-Gabe zu durchbrechen und die Depression wieder aufzuheben.

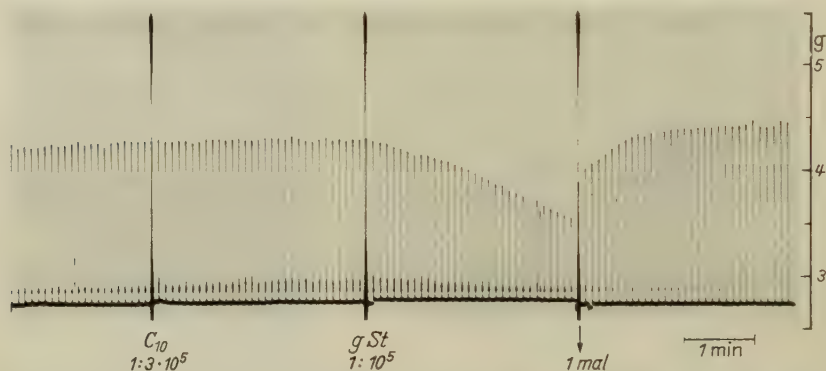


Abb. 3. Synergismus zwischen *g-Strophanthin* und *Decamethonium*. Technik und Bezeichnungen wie auf Abb. 1. C 10 *Decamethonium*. Versuch am 13. 3. 53/II.

Im Versuch, der in Abb. 4 dargestellt ist, wird der Badflüssigkeit dTc $1:8 \times 10^5$ zugefügt. Nach 5 min beträgt die Depression 32% und würde bei weiterem gleichmäßigen Verlauf nach 6 min etwa 41% erreicht haben. Auf gSt-Gabe ($1:10^5$) wird die dTc-Depression sofort durchbrochen und die Spannungsentwicklung hat bereits 30 sec später den Ausgangswert fast vollständig erreicht. Beim anschließenden Badwechsel wird gSt wieder zugefügt, so daß bei gleichbleibender gSt-Konzentration nur das dTc ausgewaschen wird. Bei erneuter dTc-Gabe bleibt jetzt die sonst zu erwartende Depression aus.

6. *g-Strophanthin* und *Flaxedil* (Fl). Fl $1:10^5$ — $1:10^4$ führt am indirekt gereizten Muskel zu einer Erschwerung der neuromuskulären Übertragung. Diese Depression ist ein gut reproduzierbarer und leicht reversibler Effekt. Es ist möglich, die Fl-Depression sowohl durch vorherige Gabe von gSt zu verhindern, als auch den partiellen Fl-Block mit gSt zu durchbrechen, so daß die reduzierte Spannungsentwicklung wieder den Ausgangswert erreicht. Der in Abb. 4 veranschaulichte Antagonismus zwischen gSt und dTc entspricht im wesentlichen dem antagonistischen Verhalten zwischen gSt und Fl.

7. *g-Strophanthin* und *Eserin* (Es) bzw. *Prostigmin* (Pr). Am indirekt gereizten Zwerchfell bewirken geringe Es- bzw. Pr-Konzentrationen eine Zunahme der Spannungsentwicklung. Nach höheren Dosen nimmt die Spannungsentwicklung wieder ab und wird schließlich auch durch weitere Erhöhung der Es- bzw. Pr-Konzentration nicht mehr beeinflusst. An einem in dieser Weise vorbehandelten Muskel führt gSt in selbst unwirksamer Konzentration zu einer sofort einsetzenden Depression.

Aus Abb. 5 ist zu sehen, daß auf Gabe von Pr $1:5 \times 10^6$ die Spannungsentwicklung des Muskels nach 2 min um 56% zugenommen hat. Gleichzeitig kommt es zu einer Verzögerung der Erschlaffung des kontrahierten Muskels. Nach zusätzlicher Pr-Gabe ($1:10^6$) nimmt die Spannungsentwicklung wieder ab und ist nach 13 min um 7% unter den Ausgangswert gesunken. Die erneute Pr-Gabe von $1:10^6$ verändert das Mechanogramm während der folgenden 3 min nicht weiter. Jetzt führt aber gSt in allein unwirksamer Konzentration ($1:10^5$) zu einer sofort einsetzenden Depression, die nach 3 min 57% beträgt.

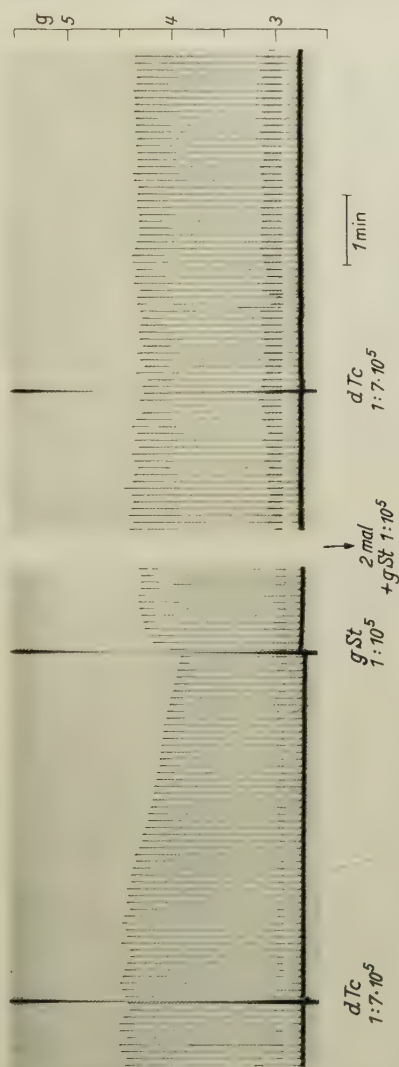


Abb. 4. Antagonismus zwischen *g-Strophanthin* und *d-Tubocurarin*. Technik und Bezeichnungen wie auf Abb. 1. dTc *d-Tubocurarin*. Versuch am 13. 3. 53/IV.

8. *Digoxin* (Do) und *Digitoxin* (Dt). Der Badflüssigkeit wird Do bzw. Dt in Konzentrationen von $1:10^6$ — $1:10^5$ zugesetzt. Im Mechanogramm des indirekt gereizten Zwerchfells ist während 10 min Einwirkungszeit kein Effekt zu beobachten. Es ist jedoch möglich, durch einige Minuten vorher gegebenes Do bzw. Dt die Depression durch C 10 zu verstärken

und die Depression durch dTc abzuschwächen. Im Vergleich zum gSt setzt sowohl die Do- als auch die Dt-Wirkung langsamer ein und ist auch nach häufigem Badwechsel nicht voll reversibel.

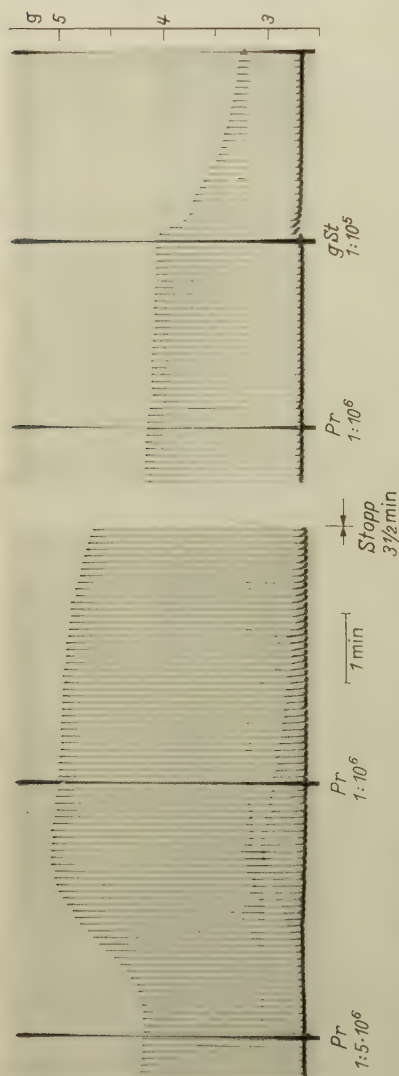


Abb. 5. Strophanthinwirkung nach Hemmung der Cholinesterase durch Prostigmin. Technik und Bezeichnungen wie auf Abb. 1. Pr Prostigmin, Versuch am 13. 3. 53/V.

9. *Natriumtaurocholat* (Nt) und *Testoviron T* (Tv). Nt $1:10^5$ hat keinen Einfluß auf das Mechanogramm des indirekt gereizten Zwerchfells. Auch nach Einwirkungszeiten bis zu 15 min wird durch vorherige Nt-Gabe weder die Depression durch C 10, noch die Depression durch dTc quantitativ deutlich verändert. Entsprechende Tv-Konzentrationen ($1:10^5$) bewirken allein schon eine geringe aber gleichmäßig verlaufende Depression am indirekt gereizten Muskel. Tv hat aber auch nach längerer Einwirkungszeit (bis zu 8 min) keinen deutlichen Einfluß auf das Ausmaß der Depression durch C 10 oder dTc.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Am normal innervierten Warmblütermuskel führt jede Membranänderung, sei es im Sinne einer Stabilisierung des Membranpotentials, sei es im Sinne einer Depolarisierung, letztlich zu einer Erschwerung der neuromuskulären Übertragung (Depression) oder sogar zum neuromuskulären Block (FELDBERG). Entscheidend für die Auswirkung im Mechano-

gramm scheint lediglich das Ausmaß dieser Membranänderung zu sein. Geringe Membranschwankungen, die schon im physiologischen Geschehen auftreten können, sind „unterschwellig“ und brauchen sich nicht störend auf den normalen Erregungsablauf auszuwirken.

Die Versuche mit gSt am isolierten Mäusezwerchfell ergaben, daß weder geringe noch hohe gSt-Konzentrationen das Mechanogramm des direkt oder indirekt gereizten Muskels verändern (Versuch 1). Dieser Befund steht in Einklang mit den Versuchsergebnissen von HOTOVY und ERDNISS am Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Ratte. Wenn gSt eine Membranwirkung besitzt, dann ist die dadurch bedingte Erschwerung der neuromuskulären Übertragung offenbar zu gering, um als Depression im Mechanogramm in Erscheinung zu treten. Es wurde deswegen versucht, mit Hilfe anderer Substanzen den Membranzustand über das physiologische Maß hinaus zu verändern, um damit auch eine „unterschwellige“ Membranwirkung des gSt erfassen zu können.

Auf der einen Seite liegen im dTc (7, 8, 23, 32) und Fl (3, 28, 34, 36) Substanzen vor, die einen stabilisierenden Einfluß auf das Membranpotential haben; auf der anderen Seite stehen die Substanzen, deren gemeinsame Wirkung eine Depolarisation der Membran ist, zu denen man neben dem Ach (24, 25) auch das Sch (12–16, 27) und das C 10 (6, 31, 32, 42) rechnen kann.

Es ließ sich zeigen, daß gSt die Depression der depolarisierend wirkenden Substanzen (Ach, Sch und C 10) verstärkt (Versuch 2–4) und sich antagonistisch gegenüber den stabilisierend auf das Membranpotential wirkenden dTc und Fl verhält (Versuch 5 und 6). Diese gSt-Wirkung könnte entweder dadurch bedingt sein, daß gSt selbst depolarisierend auf die Membran wirkt, oder dadurch, daß es durch Hemmung der Cholinesterase eine Konzentrationserhöhung des depolarisierend wirkenden Ach an der motorischen Endplatte verursacht.

Nach Hemmung der Cholinesterase durch hohe Es- oder Pr-Gaben (1, 4, 5, 9, 17, 38) führte gSt in vorher unwirksamer Konzentration zu einer Depression (Versuch 7). Eine nennenswerte Esterasehemmung des gSt ist unter diesen vergleichbaren Versuchsbedingungen auszuschließen. gSt ist somit nicht nur Synergist der unphysiologisch hohen Ach-Dosen, sondern verstärkt unter diesen Bedingungen auch das durch Nervenreiz freiwerdende Ach.

Auf Grund dieser Befunde kann man annehmen, daß gSt die Membran im Sinne einer Depolarisation verändert. Diese Depolarisation ist sehr wahrscheinlich auch nach hohen gSt-Gaben noch zu gering, um als Depression im Mechanogramm in Erscheinung zu treten.

Die in gleicher Weise mit anderen Digitalisglykosiden durchgeführten Versuche zeigten, daß auch Do und Dt in an sich unwirksamen Konzentrationen die Depression depolarisierend wirkender Substanzen verstärken und sich antagonistisch gegenüber den Substanzen verhalten, die das Membranpotential stabilisieren (Versuch 8). Es handelt sich demnach um eine Wirkung, die nicht nur dem gSt sondern auch anderen Digitalisglykosiden zukommt. Ob und in welchem Ausmaß die depolarisierende

Eigenschaft der Digitalisglykoside an ihrer spezifisch-therapeutischen Wirkung beteiligt ist, läßt sich auf Grund der vorliegenden Befunde nicht entscheiden.

Es wurde weiterhin geprüft, ob außer den Digitalisglykosiden auch andere Sterinkörper eine entsprechende Membranwirkung besitzen. Bei den in gleicher Weise durchgeführten Versuchen mit Nt und Tv ließ sich jedoch kein Synergismus bzw. Antagonismus gegenüber den depolarisierend oder auf das Membranpotential stabilisierend wirkenden Substanzen nachweisen. Demnach scheint der Steroidcharakter der Digitaliswirkstoffe allein die beobachteten Membranwirkungen nicht erklären zu können.

Zusammenfassung.

1. Am isolierten Mäusezwerchfell konnte gezeigt werden, daß g-Strophanthin ($1:10^7$ — $1:10^4$) die neuromuskuläre Übertragung nicht sichtbar verändert.

2. Kombinationsversuche mit Substanzen, die die neuromuskuläre Übertragung in bekannter Weise beeinflussen, ergaben:

a) g-Strophanthin verstärkt die Depression durch Acetylcholin, Succinylcholin und Decamethonium.

b) g-Strophanthin verhindert den partiellen neuromuskulären Block durch d-Tubocurarin und *Flaxedil* und kann ihn auch durchbrechen.

c) g-Strophanthin führt nach Hemmung der Cholinesterase durch Eserin oder Prostigmin zu einer Erschwerung der neuromuskulären Übertragung.

3. Auch Digoxin und Digitoxin verstärken die Decamethonium-Wirkung und verhalten sich antagonistisch gegenüber der d-Tubocurarin-Wirkung.

4. Mit anderen Sterinkörpern wie Natriumtaurocholat und *Testoviron T* läßt sich kein Synergismus bzw. Antagonismus gegenüber Decamethonium oder d-Tubocurarin nachweisen.

5. Auf Grund dieser Befunde wird angenommen, daß Digitalisglykoside eine Membranwirkung im Sinne einer Depolarisation besitzen, eine Eigenschaft, die nicht auf einer Cholinesterasehemmung beruht und nicht allein dem Sterinskelet zukommen kann.

Literatur.

- ¹ BACQ, Z. M., u. G. L. BROWN: J. of Physiol. **89**, 45 (1937). — ² BORASI, M.: Arch. ital. Sci. farmacol. **10**, 264 (1941). — ³ BOVET, D., F. DEPIERRE, S. COURVOSIER, u. Y. DE LESTRANGE: Arch. internat. Pharmacodynamie **80**, 172 (1949). — ⁴ BÜLBRING, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — ⁵ BÜLBRING, E., u. G. L. BROWN: J. of Physiol. **101**, 224 (1942). — ⁶ BURNS, B. D., u. W. D. M. PATON: J. of Physiol. **115**, 41 (1951). — ⁷ ECCLES, J. C., u. M. O'CONNOR: J. of Physiol. **97**, 44 (1939). — ⁸ ECCLES, J. C., B. KATZ u. S. W. KUFFLER: J. of Neurophysiol. **4**, 362 (1941). — ⁹ ECCLES, J. C., B. KATZ u. S. W. KUFFLER: J. of Neurophysiol. **5**, 211

- (1942). — ¹⁰ EICHHOLTZ, F.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. Bad Nauheim 1950. — ¹¹ FELDBERG, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **212**, 82 (1950). — ¹² GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: Arch. internat. Pharmacodynamie **86**, 385 (1951). — ¹³ GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 79 (1951). — ¹⁴ GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 351 (1952). — ¹⁵ GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: Experientia (Basel) **7**, 387 (1951). — ¹⁶ GINZEL, K. H., H. KLUPP u. G. WERNER: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **213**, 453 (1951). — ¹⁷ GÖPFERT, H., u. H. SCHAEFER: Pflügers Arch. **244**, 459 (1941). — ¹⁸ GUTTMANN, S. A.: J. of Pharmacol. **80**, 126 (1943). — ¹⁹ GUTTMANN, S. A., u. McKEEN CATTELL: J. of Pharmacol. **68**, 267 (1939). — ²⁰ HOTOVY, R., u. H. ERDNISS: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **209**, 204 (1949). — ²¹ HOTOVY, R., u. W. KÖNIG: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **213**, 175 (1951). — ²² ISHIKAWA, Y.: zit. nach RONA **21**, 365 (1924). — ²³ KUFFLER, S. W.: J. of Neurophysiol. **5**, 18 (1942). — ²⁴ KUFFLER, S. W.: J. of Neurophysiol. **9**, 367 (1946). — ²⁵ KUFFLER, S. W.: J. of Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — ²⁶ LENDLE, L.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforsch. **16**, 54 (1950). — ²⁷ LÜLLMANN, H., u. W. FÖRSTER: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **217**, 217 (1953). — ²⁸ MELVILLE, K. J.: J. of Pharmacol. **106**, 208 (1952). — ²⁹ NEUSCHLOSZ, S. M.: Pflügers Arch. **197**, 235 (1922). — ³⁰ PARDO, G., D. GARCIA-TELLEZ u. C. POZO: J. of Pharmacol. **101**, 63 (1951). — ³¹ PATON, W. D. M., u. E. ZAIMIS: J. of Physiol. **108**, 55 P (1949). — ³² PATON, W. D. M., u. E. ZAIMIS: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949). — ³³ PATON, W. D. M., u. E. ZAIMIS: J. of Physiol. **112**, 311 (1951). — ³⁴ PELIKAN, E. W., u. K. R. UNNA: J. of Pharmacol. **104**, 354 (1952). — ³⁵ POZO, DEL, E. C., u. G. PADRO: J. of Pharmacol. **97**, 144 (1949). — ³⁶ PRESTON, J. B., u. E. F. VAN MAANEN: J. of Pharmacol. **107**, 165 (1953). — ³⁷ RIECKER: Klin. Wschr. **1953**, 191. — ³⁸ ROSENBLUETH, A., u. R. S. MORISON: Amer. J. Physiol. **119**, 236 (1937). — ³⁹ TRAUTWEIN, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **112**, 155 (1950). — ⁴⁰ TRAUTWEIN, W., u. P. N. WITT: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **216**, 197 (1952). — ⁴¹ WEESE, H.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforsch. **16**, 66 (1950). — ⁴² ZAIMIS, E.: J. of Physiol. **112**, 176 (1951).

Dr. ERIK WESTERMANN, Pharmakologisches Institut der Univ. Frankfurt/Main,
Theodor-Stern-Haus, Weigertstr. 3.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. KUSCHINSKY).

Der Einfluß von BAL und Methionin auf die Schilddrüsenhyperplasie nach chronischer Gabe von Methylthiouracil.

Von

W. FÖRSTER und E. MUSCHOLL.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Januar 1954.)

Wie in der voranstehenden Arbeit (FÖRSTER u. MUSCHOLL) mitgeteilt wurde, konnte bei Ratten die Steigerung der Schilddrüsen Gewichte bei Behandlung mit 4-Methyl-2-thiouracil (MTU) durch Zugabe von Methionin oder BAL gehemmt werden. Die Stoffwechselsenkung war bei den zusätzlich behandelten Tieren ebenso groß wie bei alleiniger Verabreichung von MTU. Da Cystin keine Verminderung der Hyperplasie oder histologischen Aktivität der Schilddrüse verursachte, schlossen wir es von einer erneuten Prüfung aus. Dagegen erschien eine weitere Untersuchung von BAL und Methionin hinsichtlich einer „Schutzwirkung“ auch bei chronischer Verabreichung von MTU lohnend. Um das Wirkungsverhältnis zu verbessern, verdoppelten wir die BAL-Dosis und reduzierten die MTU-Dosis auf $\frac{1}{4}$ der im kurzfristigen Experiment benutzten Menge¹.

Methodik.

Der Versuch wurde von Januar bis März 1951 unternommen. Zur Untersuchungsmethodik siehe die vorangegangene Mitteilung.

Um für die statistische Auswertung der Unterschiede im Schilddrüsen gewicht eine größere Anzahl von Organen zur Verfügung zu haben, steigerten wir die Zahl der Tiere pro Gruppe über die 7 Ratten hinaus, die gleichzeitig in der Stoffwechselapparatur untersucht werden können. Alle fortlaufend nummerierten Ratten wurden in Gruppen zu je 18 Tieren eingeteilt und erhielten gruppenweise folgende Substanzen: peroral 0,9% NaCl-Lösung, 25 mg/kg MTU („Herbrand“)²; 3 g/kg dl-Methionin „Homburg“² und intramuskulär 30 mg/kg BAL (2,3-Dithiopropanol) „Sulfactin Homburg“². Für jede Stoffwechselbestimmung wurden aus jeder Gruppe 6 Tiere mit Hilfe einer Zufallstafel ausgewählt. Dadurch wird eine vom Untersucher unbeeinflussbare (unbiased) Stichprobe gewonnen. Da sich die Zusammensetzung der Gruppen von einer Stoffwechselbestimmung zur anderen stets ändert und jedes Tier die gleiche Wahrscheinlichkeit hat, zur Untersuchung zu gelangen, können die aus den Stichproben erhaltenen Stoffwechselwerte doch als repräsentativ für die Gesamtheit gelten, obwohl nur ein Teil des Tiermaterials an jedem Tag untersucht wurde. Diese aus der Statistik übernommene Methode hat

¹ Ausführliche Darstellung der Versuchsergebnisse siehe MUSCHOLL.

² Die Substanzen wurden uns freundlicherweise von den Firmen zur Verfügung gestellt.

den Vorteil, mit einem Minimum an Arbeitsaufwand selbst große Kollektive mit ausreichender statistischer Genauigkeit stoffwechselmäßig durchuntersuchen zu können.

Versuchsergebnisse.

Die 43 Tage mit 3 g/kg Methionin behandelte Gruppe wies eine signifikante Stoffwechselsteigerung ($P < 0,001$) auf (Abb. 1). Gewicht und histologisches Bild der Schilddrüse waren im Vergleich zu den mit NaCl-Lösung behandelten Tieren nicht wesentlich verändert. Dagegen verursachte BAL (30 mg/kg) in der gleichen Zeit bei nicht signifikanter ($P > 0,2$) Stoffwechselerhöhung eine deutliche Aktivierung (Tab. 1), jedoch keine Gewichtssteigerung der Schilddrüse ($P > 0,2$).

Tabelle 1. *Durchschnittliches Gewicht und histologisches Bild der Schilddrüsen der Kontrollgruppen.*

Behandlung	Schilddrüsengewicht in mg/100 g	Epithelhöhe der Schilddrüsen	Vorkommen kolloid- reicher Follikel in %
0,9%ige NaCl-Lösung. . .	5,56	flach	98
BAL	5,7	kubisch	24
Methionin	6,3	flach bis kub.	88

Um die Stoffwechselwerte der mit MTU sowie der zusätzlich mit BAL oder Methionin behandelten Gruppen durch Regressionslinien wiedergeben zu können, mußten diese jeweils in 2 Abschnitte zerlegt werden, die den 2 verschiedenen Phasen des Stoffwechselverhaltens entsprechen (Abb. 2 und 3).

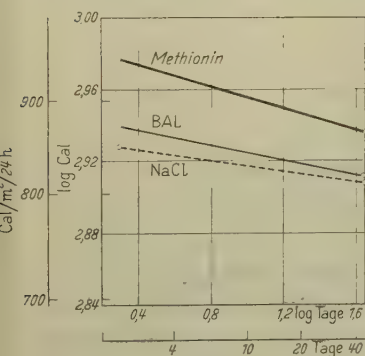


Abb. 1

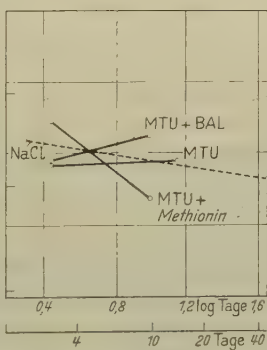


Abb. 2

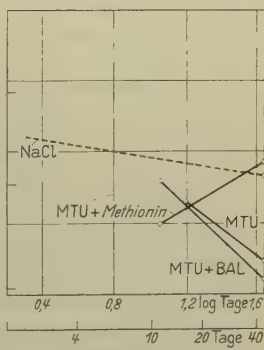


Abb. 3

Abb. 1. Stoffwechselregressionslinien der Kontrollgruppen. Ordinate: $\text{Cal/m}^2/24 \text{ Std}$, Abszisse: Behandlungstage, beides in logarithmischer Auftragung.

Abb. 2. Stoffwechselregressionslinien der mit MTU und zusätzlich mit BAL und Methionin behandelten Gruppen: Erste Wirkungsphase. Ordinate: $\text{Cal/m}^2/24 \text{ Std}$, Abszisse: Behandlungstage, beides in logarithmischer Auftragung.

Abb. 3. Stoffwechselregressionslinien der mit MTU und zusätzlich mit BAL und Methionin behandelten Gruppen: Zweite Wirkungsphase. Ordinate: $\text{Cal/m}^2/24 \text{ Std}$, Abszisse: Behandlungstage, beides in logarithmischer Auftragung.

Bis zum 13. Versuchstag verursachte MTU (25 mg/kg) noch keine Stoffwechselsenkung ($P > 0,2$, Abb. 2). Dann erfolgte aber in der zweiten Wirkungsphase ein signifikanter ($P < 0,001$) Stoffwechselabfall (Abb. 3). Auch bei MTU + BAL-Behandlung war in der ersten Phase bis zum 10. Tag kein Unterschied zu der Stoffwechselhöhe der Kontrollgruppe nachzuweisen ($P > 0,2$), während die anschließende Stoffwechselsenkung statistisch gesichert ist ($P < 0,001$). Ein ganz anderes Bild zeigte die MTU + Methionin-behandelte Gruppe: Ein anfänglicher steiler Abfall der Stoffwechselwerte erreichte am 11. Tag seinen Tiefstand (Abb. 2), um dann in einen kontinuierlichen Anstieg (Abb. 3) überzugehen. Am Ende des Versuches liegen die Stoffwechselwerte in der gleichen Höhe wie die der Kontrollgruppe. Die Schilddrüsengewichte der Tiere, denen zusätzlich BAL oder Methionin verabreicht wurden, waren im Vergleich zur MTU-behandelten Gruppe erhöht (Tab. 2), wobei die Verdoppelung des Schilddrüsengewichtes durch die Methioninzugabe im Zusammenhang mit der aufgehobenen Stoffwechselsenkung besonders auffällig war. Auch die histologische Aktivierung der Schilddrüse wurde durch BAL- und Methioninzugabe zu MTU gesteigert (Tab. 2).

Tabelle 2. *Durchschnittliches Gewicht und Epithelhöhe der Schilddrüsen bei MTU- und zusätzlicher Behandlung mit BAL und Methionin.*

Behandlung	Schilddrüsengewicht in mg/100 g	Epithelhöhe der Schilddrüsen
MTU	14,9	kubisch
MTU + BAL.	19,7	zylindrisch
MTU + Methionin	27,8	zylindrisch

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Das Stoffwechselverhalten und die Veränderungen an den Schilddrüsen durch Behandlung mit BAL und Methionin entsprachen auch in dieser langfristigen Versuchsreihe ganz den früher mitgeteilten Befunden. Die Latenzzeit bis zum Auftreten der Stoffwechselsenkung durch MTU (13 Tage) war wohl wegen der geringen Dosis verhältnismäßig lang. Sie wurde aber auch in diesem Versuch durch Zugabe von BAL oder Methionin verkürzt. Dagegen war die in dem 16tägigen Versuch vorhandene „Schutzwirkung“ von BAL und Methionin auf den „MTU-Kropf“ nicht nachweisbar. Der etwas stärker und regelmäßiger auftretenden Stoffwechselsenkung durch MTU + BAL (Abb. 3) entsprach ein etwas größeres Schilddrüsengewicht. Hierbei wurde wohl BAL in einer sonst unterschwelligen Dosis antithyreoidal wirksam, so daß sich

dieser Effekt zu dem von MTU addierte. Ob die verschiedenen Ergebnisse, besonders die Wirkung von MTU + Methionin, gegenüber der 16tägigen Versuchsreihe allein auf die verschiedene Behandlungsdauer oder zum Teil auch auf das veränderte Dosenverhältnis zurückzuführen sind, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Die so schnell vorübergehende „Schutzwirkung“ auf den „MTU-Kropf“ durch BAL und Methionin macht einen Angriff am hypophysären Regulationssystem wahrscheinlich.

Die Steigerung des Schilddrüsengewichtes während der MTU-Behandlung erklären HÜSING u. LOESER durch das Fehlen antithyreotroper Wirkstoffe im Blut gegen das von der eigenen Hypophyse vermehrt abgegebene thyreotrope Hormon. EITEL u. LOESER konnten nämlich zeigen, daß normalerweise im Blute des Menschen und verschiedener Tiere ein antithyreoidaler Schutzstoff vorhanden ist. Werden Meerschweinchen z. B. 6 Tage mit Hammelserum behandelt, so bleibt die Wirkung zugeführten thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse aus. Durch längere Vorbehandlung der Spendertiere mit thyreotropem Hormon wird der Wirkungsgrad dieses Schutzstoffes erhöht. Überträgt man dagegen das Blut von Ratten, die 160 Tage lang MTU erhielten (HÜSING u. LOESER), so zeigt deren Blut keinerlei Schutzeffekte gegen das den Testtieren zugeführte thyreotrope Hormon.

Während HÜSING u. LOESER also nachwiesen, daß trotz MTU-Behandlung die Schilddrüse gegen das von der eigenen Hypophyse ausgeschüttete thyreotrope Hormon nicht unempfindlich wird, konnten ALBERT et al. in vivo und in vitro zeigen, daß unter der Behandlung mit verschiedenen Thyreostatica sogar eine Sensibilisierung der Schilddrüse für thyreotropes Hormon eintritt. Somit besteht die Möglichkeit, daß die Hyperplasie der Schilddrüse während der MTU-Behandlung nicht nur durch vermehrte Ausschüttung, sondern auch durch gesteigerte Wirkung des thyreotropen Hormons hervorgerufen wird.

Zusammenfassung.

Bei 45tägiger Verabreichung wurde an Ratten der Einfluß von BAL (30 mg/kg) und Methionin (3 g/kg) auf die durch Methylthiouracil (MTU, 25 mg/kg) verursachten Stoffwechsel-, Schilddrüsenengewichts- und -aktivitätsänderungen untersucht. Die Ergebnisse sind statistisch gesichert.

1. BAL und Methionin verkürzten die Latenzzeit bis zum Eintreten der Stoffwechselsenkung durch MTU.
2. Die Stoffwechselsenkung durch MTU wurde durch BAL-Zugabe nicht verändert; Zugabe von Methionin verursachte nach anfänglichem Absinken einen Anstieg des Stoffwechsels bis auf die Werte der unbehandelten Kontrollen.
3. Die Zugabe von BAL oder Methionin zu MTU rief eine Steigerung der Schilddrüsenepithelhöhe hervor. Methioninzugabe führte zur Verdoppelung des Schilddrüsengewichtes gegenüber alleiniger MTU-Behandlung.

4. Die Ergebnisse weisen Unterschiede gegenüber denen einer kurzfristigen Versuchsreihe auf (siehe vorangegangene Mitteilung). Mögliche Ursachen hierfür werden diskutiert.

Literatur.

ALBERT, A., R. W. RAWSON, P. MERRILL, B. LENNON u. C. B. EIDDELL: *Endocrinology* **40**, 303, 361 (1947). — EITEL, H., u. A. LOESER: *Klin. Wschr.* **1934**, 1677.
— FÖRSTER, W., u. E. MUSCHOLL: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **222**, 388 (1954).
— HÜSING, E., u. A. LOESER: *Klin. Wschr.* **1949**, 394. — MUSCHOLL, E.: *Inaug.-Diss. Mainz* 1952.

Dr. W. FÖRSTER. Ludwigshafen/Rh., Ebertstr. 1.

Dr. E. MUSCHOLL, Pharmakolog. Institut der Universität Mainz.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. N. HENNING).

Pharmakologische Beeinflussung der Dünndarmmotilität beim Menschen durch Diphenyl-piperidino-äthyl- acetamid-brommethylat (12 494 Hoechst) und Regitin.

Von

H. J. SIELAFF und H. DENGLEK.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Februar 1954.)

Die geläufige Röntgenmethode vermag zwar aus Abwegigkeiten von Passagezeit und Füllungsbild des Magendarmkanals gewisse Rückschlüsse auf Motilitätsstörungen zu ziehen, ermöglicht jedoch infolge visueller Schwierigkeiten meist nur eine bedingte Erfassung feinerer Funktionsabläufe. Röntgenkymographie und -kinematographie können andererseits aus strahlenschutztechnischen Gründen nur in zeitlich sehr begrenztem Rahmen angewendet werden. Einen wesentlichen Fortschritt in der Analyse feinerer Bewegungsvorgänge sehen wir durch die *graphische Registrierung* der menschlichen Dünndarmmotilität gegeben (GANTER, MILLER-ABBOTT und andere).

Mit dieser Methode erbrachten wir in vorausgegangenen Untersuchungen den Nachweis enger Beziehungen zwischen verschiedenen vorwiegend gastro-intestinalen Krankheitsbildern und Motilitätsstörungen des Dünndarmes. So fanden sich hypermotil-dystone Kurvenbilder bei der Ulcuskrankheit — insbesondere dem Ulcus duodeni — sowie bei der sogenannten hypermotorischen Enteritis und spastischen Obstipation, jedoch auch bei Pat. mit allgemeinen Zügen vegetativer Dystonie und funktionellen abdominellen Beschwerden. Andererseits deckte die Registrierung hypomotile Formen bei Hepato- und Cholecystopathien, Hypothyreosen und atonischer Obstipation auf. Die Erfassung pathologischer Motilitätsverhältnisse ist daher bedeutungsvoll, zumal diese im neueren Schrifttum für manche bislang noch wenig objektivierbaren abdominellen Schmerz- und Beschwerdezustände weitgehend verantwortlich gemacht werden (BRUMMER, FRANK u. LEODOLDER, WEGELIUS).

In der Behandlung hypermotiler und spastischer Zustände stand bisher neben den muskulär angreifenden Pharmaka (Papaverin, Octinum und andere) in der Hauptsache das Atropin und seine Abkömmlinge zur Verfügung. Die Entwicklung und Anwendung der neuzeitlichen ganglienblockierenden Substanzen ermöglichte erstmals eine umfassende Beeinflussung der Organfunktionen über das vegetative Nervensystem. Über die Wirkung von Pendiomid, Buscopan und des als Ganglienblocker umstrittenen Banthins auf die menschliche Dünndarmmotorik berichteten wir an anderer Stelle (SIELAFF).

In jüngster Zeit wurde im Präparat 12 494 (Farbwerke Hoechst) ein Körper gefunden, der die ganglionären Synapsen blockiert und eine parasymphatikolytische Wirkung besitzt. Chemisch handelt es sich um das Diphenyl-piperidino-äthyl-acetamid-brommethylat.

Nach Untersuchungen von LINDNER¹ bewirkte 12494 am isolierten Meer-schweinchendickdarm eine Lösung des Histamin-, Lentin- und Bariumchlorid-spasmus. Am lebenden Hunde konnte durch vorherige i.v. Injektion von 3—6 γ /kg der Lentinspasmus verhindert werden. Auch Magenentleerung und Dünndarm-passagezeit wurden erheblich verzögert. An Ratten ließ sich mit 16 γ /kg i. m. eine 50%ige Hemmung der HCl-Sekretion, die sich sowohl aus einer Verminderung der Acidität wie der Saftmenge ergab, nachweisen.

Die therapeutische Beeinflussung der Hypomotilität beruht bislang im wesentlichen in der Anwendung von Parasympathikomimetika (Prostigmin, Cholin, Acetylcholin, Doryl und andere), die sich uns jedoch bei experimenteller Prüfung am menschlichen Dünndarm nicht immer als wirksam erwiesen haben.

Aus der Überlegung, daß hypokinetische Zustandsbilder am Magen-Darmkanal Ausdruck einer sympathikotonen Hemmung sein können, entschlossen wir uns, Versuche über die Beeinflussung der Dünndarm-motilität durch Sympathikolyse anzustellen. Als besonders geeignet hierfür erschien uns das *Regitin* (Fa. Ciba), ein 2-[N-p-Tolyl-N-(m-oxyphenyl)-aminomethyl]-imidazolin, dessen spezifisch adreno- und arterenolytische Wirkung bereits experimentell und klinisch erwiesen ist.

Nach GROSS, TRIPOD und MEIER vermochte Regitin am isolierten Kaninchen-dünndarm die hemmende Wirkung des Adrenalins abzuschwächen. Auch am Ganz-tier wurde die adrenalinbedingte Lähmung der Darmmotilität vermindert, jedoch nicht ganz behoben. Von anderen stark wirksamen Sympathikolytika vermochten nach ROTHLIN nur die hydrierten Mutterkornalkaloide eine ähnliche Wirkung zu erzielen. DEMLING, KINZLMEIER und HENNING fanden nach subcutaner Injektion von 20 bzw. 30 mg Regitin bei 5 Vp. in 2 Fällen eine erhebliche Zunahme, in 3 weiteren Fällen keine Beeinflussung oder nur eine leichte Verminderung der Magen-motilität. Die Magentemperatur sank in 4 Fällen ab, die Acidität nahm 3mal zu, das Sekret wurde eher reichlicher und dünnflüssiger. Versuche über die Eigenwirkung des Regitins auf den menschlichen Dünndarm sind uns bisher nicht bekannt ge-worden.

Methodik. Einführung der doppellumigen Dünndarmsonde nach MILLER-ABBOTT bei der nüchternen Versuchsperson (Vp.). Röntgenkontrolle des Sondenballons im absteigenden Duodenalast, bei Resektionsmägen im abführenden Jejunalschenkel. Rückenlagerung der Vp. Das zum Ballon führende Lumen wurde mit einem Glas-rohrkreuz verbunden, dessen andere Ausgänge zur Marey-Kapsel, zu einem Queck-silbermanometer und zu einer Flaschenanordnung führten, aus der das System mit Luft aufgefüllt wurde. Eine Aufblähung mit 30 cm³ Luft hatte sich in den meisten Fällen erfahrungsgemäß am günstigsten erwiesen. Die durch die Darmbewegungen dem System mitgeteilten Druck- und Volumenschwankungen wurden über Marey-Kapsel und Schreibhebel auf einem Russkymographion aufgezeichnet. Bei den pharmakologischen Prüfungen befand sich der Sondenballon meist im oberen Jejunum, seine Wegstrecke wurde am Wandern der Sondenmarken oder röntgeno-logisch verfolgt. Über das normale Motilitätsbild des Dünndarmes und seine Ab-weichungen (Hypermotil-dystoner und hypomotiler Typ) wurde in früheren Ar-beiten berichtet.

Röntgenmethode: Durchleuchtung, Übersichts- und Zielaufnahmen vor und nach pharmakologischer Beeinflussung. Röntgenkymographie: 12 mm Raster nach STUMPF, Ablauf 10—15 sec, 70—90 Kv, 15 mA.

¹ E. LINDNER: nach persönl. Mitteilung, Arbeit erscheint demnächst.

Versuche mit 12494 (Hoechst).

12494 wurde an 16 Vp. erprobt. Es handelte sich vorwiegend um Patienten mit gastro-intestinalen Erkrankungen (Ulcuskrankheit sowie funktionelle Passagebeschleunigungen mit röntgenologischer sogenannter „Enteritis“). Die hypermotil-dystonen Typen standen demnach im Vordergrund. 13 graphische Registrierungen, 3 Röntgenuntersuchungen.



Abb. 1. Wirkung von 12494 am Jejunum (Zeit in Minuten) (Ulcus duodeni, Prot. Nr. 127/52).

Die Applikation erfolgte bei 14 Vp. i.v., 2mal wurde 12494 peroral gegeben. I.v. Dosierung: 0,25 mg (1 Vp.), 0,5 mg (12 Vp.), 1,0 mg (1 Vp.). Perorale Dosierung: 5 mg. Injektionsdauer: 1 min (7 Vp.), 2 min (4 Vp.), 3 min (2 Vp.), 5 min (1 Vp.). Beobachtungsdauer nach Verabfolgung: 13–68 min, meist zwischen 30 und 50 min. Bei Röntgenuntersuchungen wurden Nachdurchleuchtungen bis zu 5 Std p.c. durchgeführt. Vor der pharmakologischen Prüfung erfolgte eine genügend lange Beobachtung des unbeeinflussten Motilitätsbildes, welches sich im Normalfalle durch das Vorherrschen von sogenannten kleinen Wellen mit einer durchschnittlichen Frequenz von 10–12 pro min auszeichnet, während beim hypermotilen Typ eine Häufung der großen Wellenbewegungen zu beobachten ist.

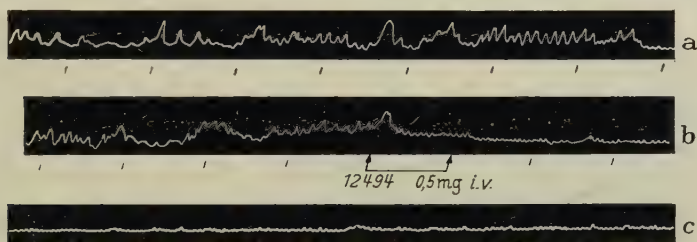


Abb. 2. Wirkung von 12494 am Jejunum (Ulcus ventr., Prot. Nr. 9/53).

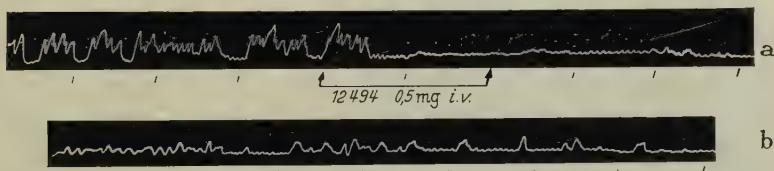


Abb. 3. Wirkung von 12494 am Jejunum (Narbenbulbus, Prot. Nr. 15/53).

Ergebnisse. 0,5 bzw. 1,0 mg 12494 intravenös erbrachten in allen geprüften Fällen während oder am Ende der Injektion eine plötzliche Änderung des Kurvenbildes. Es trat eine völlige Amotilität ein, kenntlich an der tonischen Starre des Kurvenbildes bei Verlust kleiner und großer Wellenbewegungen (Abb. 1). 0,25 mg intravenös bewirkten nur eine flüchtige Hypomotilität in Form von Amplitudenverkleinerung der

kleinen Dünndarmbewegungen, große Wellen waren für 10 min p. i. nicht mehr nachweisbar. 0,5 mg — 3 bzw. 5 min injiziert — riefen völlige Amotilität von 4—7 min, in einem Falle auch von 40 min hervor. Die

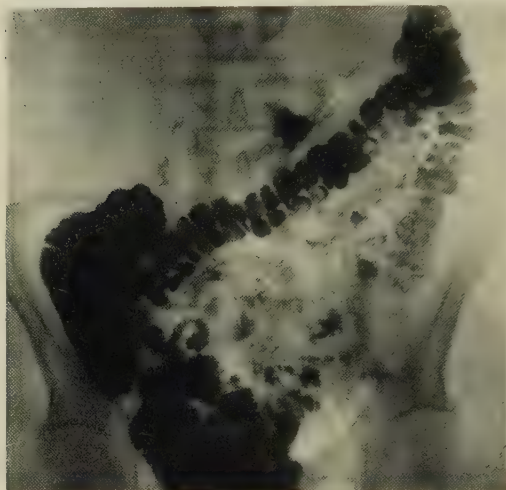


Abb. 4a. 80 min p.c.



Abb. 4b. 80 min p.c. 4 Tage später.

gleiche Dosis — in 1 bzw. 2 min verabfolgt, erzielte Bewegungslosigkeit zwischen 30 und 60 min, durchschnittlich um 40 min. Die amotile Phase wurde schließlich durch allmähliche Wiederkehr kleinster Wellenbewegungen abgelöst; diese zweite hypomotile Phase hielt in fast allen Fällen bis zum Beobachtungsende an. Es verdient besonders hervorgehoben zu werden, daß große Wellenformen in keinem der untersuchten Fälle bis zum Versuchsende mehr in Erscheinung traten (Abb. 2 und 3).

Die großen Wellenbewegungen, die beim hypermotilen und dystonen Typ häufig zu finden sind, dürften die oft unkoordiniert gesteigerte Motorik des Dünndarmes bedingen und wohl auch ursächlich mit entsprechenden subjektiven Beschwerden verknüpft sein. So gab eine Vp. (Prot. Nr. 128/52), bei welcher die Hypermotilität auch röntgenologisch in Form von segmentierender Magenperistaltik,

beschleunigter Entleerung und Dünndarmpassage zum Ausdruck kam, prompt nach Eintritt der 12494-Wirkung ein völliges Abklingen der vorher sehr heftigen abdominellen Schmerzzustände an. Eine wesentliche Bedeutung der Wirkung des Präparats sehen wir daher in der

bei anderen Ganglienblockern bereits beobachteten „Regularisierung“ unruhig gesteigerter Motilitätsbilder durch Herbeiführung eines ein-

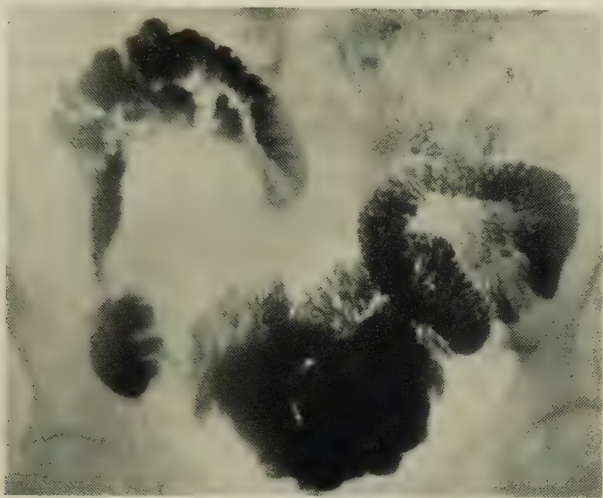


Abb. 4c. 5 1/2 Std p.c. 4 Tage später.

Abb. 4a—d. Wirkung von 12494 auf Füllung und Passage des Dünndarms.
Sogenannte hypermotorische Enteritis (Prot. Nr. 23/53).

heitlichen kleinen Wellenrhythmus, der beim Normaltyp das Motilitätsbild beherrscht. — Der Prostigmineffekt, den wir früher in Form von großen „Rollbewegungen“ beschrieben haben, konnte ebenso wie durch andere Ganglienblocker auch durch 12494 unterdrückt werden.

Perorale Medikation von 5 mg 12494 erzielte bei 2 Vp. jeweils nach etwa 20 min ebenfalls ein amotiles Kurvenbild bis zum Beobachtungsende. Wir heben diese Tatsache besonders für die klinische Anwendung hervor.

Die Röntgenuntersuchungen ermöglichten einen Überblick über die Wirkungsdauer des Präparates sowie über Füllung und Passage des Magen-Darmkanals. Abb. 4a zeigt eine ausgeprägte

hypermotorische „Enteritis“: klecksig-zerrissenes Füllungsbild des Jejunums und oberen Ileums. Breispitze 80 min nach Mahlzeit bereits

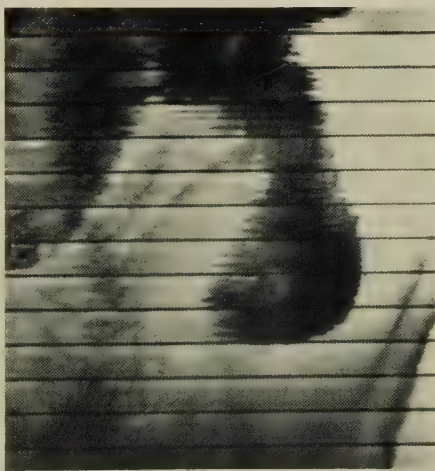


Abb. 4d. Kymogramm (Jejunum) nach 0,5 mg 12494 i.v. (Rasterlauf 15 sec).

im Colon descendens. Abb. 4b: Kontrolle 4 Tage später nach vorheriger Medikation von 0,5 mg 12494 intravenös: 80 min p.c. ist der Magen noch deutlich, das Jejunum regelmäßig und zusammenhängend gefüllt. Beginnende Pneumfüllung. Leichter Hypotonus, Bewegungslosigkeit. Abb. 4c: 5½ Std p.c. noch pralle Pneumfüllung, nur leichte sogenannte enteritische Reliefbeschläge im Jejunum. Beginnende Colofüllung. In Abb. 4d zeigt das Kymogramm deutlich die amotile Randstarre besonders im unteren lateralen Anteil einer hypotonen Jejunumschlinge.

Versuche mit Regitin.

Die Prüfung von Regitin erstreckte sich auf 15 Vp. mit abdominellen Erkrankungen wie Ulcuskrankheit, Resektionsmagen, Hepato- und Cholecystopathie und atonischer Obstipation. Bei letzteren Erkrankungen standen normo- bis hypomotile Kurvenbilder im Vordergrund. Röntgenologisch fand sich in den entsprechenden Fällen Passageverlangsamung. Außerdem wurden 2 Patienten mit sogenanntem Kardiospasmus untersucht. 11 graphische Registrierungen, 4 Röntgenuntersuchungen.

Regitin wurde in allen Fällen i. v. verabfolgt. Entsprechend dem Dosierungsschema (0,3 mg/kg Körpergewicht) wurden gegeben: 20 mg (11 Vp.), 15 mg (1 Vp.), 12 mg (1 Vp.), 10 mg (2 Vp.). Injektionszeit meist 1 min. Beobachtungsdauer post inj. 15–45 min, meist zwischen 30 und 40 min.

Ergebnisse. Der theoretisch zu erwartende Regitineffekt in Form einer Molilitätssteigerung durch Unterdrückung sympathischer Impulse wurde bei 7 Vp. eindeutig nachgewiesen. Hier traten entweder unmittelbar oder ein bis zwei Minuten post inj. ausgeprägte große Wellenbewegungen von durchschnittlich 1 min Dauer auf, die fast rhythmisch-periodisch und verhältnismäßig rasch aufeinanderfolgten. Als wesentliches Merkmal zeigte sich dabei, daß die kleinen Dünndarmbewegungen, die vorher das Bild beherrschten, weitgehend unterdrückt bzw. von den großen Wellenformen überlagert wurden und daher vor allem während des Ablaufes der letzteren nur angedeutet zur Darstellung kamen (Abb. 5 und 6).

Gleichzeitig kam es zu einem sichtlichen Weiterwandern der Sonde bis zu 30 cm innerhalb 5 min. In letzterem Fall wurde die Sonde zweimal zum Ausgangspunkt zurückgezogen und die gleiche Strecke von ihr in derselben Zeit zurückgelegt. Die Durchleuchtungskontrolle erbrachte dann, daß die Sondenspitze bereits weit in den mittleren Dünndarmabschnitten lag. (Die Sondenmaßstäbe sind keine Anhaltspunkte für die tatsächlich zurückgelegte Wegstrecke, da sich der Dünndarm bekanntlich über den Sondenballon „hinwegzustülpen“ vermag und daher ein sehr viel größerer Darmabschnitt durchlaufen werden kann.) Man ersieht aus diesem Vorgang, welcher dem Prostigminmechanismus am ehesten entspricht, daß die sogenannten großen Dünndarmbewegungen, welche beim normalen und pharmakologisch unbeeinflussten Darm verhältnismäßig

selten auftreten, den hauptsächlichen Förderimpuls ausüben dürften. Die Wirkungsdauer des Regitins betrug 10 min (2 Vp.), 15 min (1 Vp.), 20 min (2 Vp.) und 30 min (2 Vp.). Danach näherte sich das Kurvenbild allmählich wieder der Ausgangslage. In einigen Fällen mußte die Beobachtung vorzeitig abgebrochen werden. Eine eindeutige Abhängigkeit

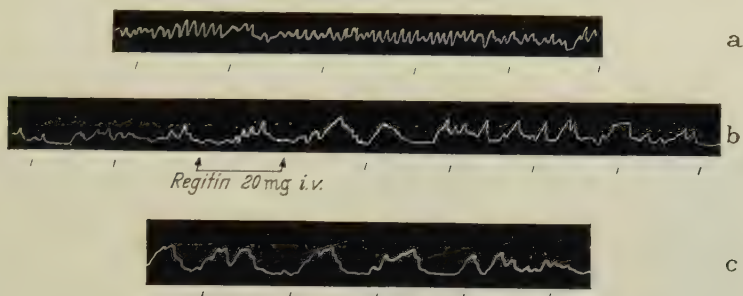


Abb. 5. Regitinwirkung am Jejunum (Vegetative Dystonie, Prot. Nr. 1/53).

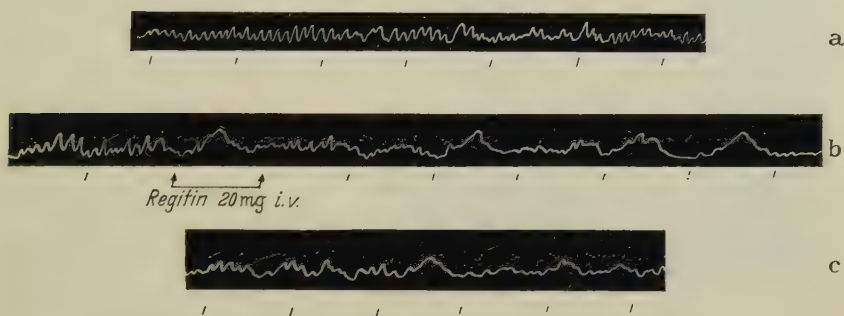


Abb. 6. Regitinwirkung am Jejunum (Narbenbulbus, Prot. Nr. 10/53).

der Wirkungsdauer von der Dosishöhe war nicht festzustellen. Bei 3 Vp. ging der Regitinwirkung eine $\frac{1}{2}$ —1 min dauernde amotile Initialphase während oder kurz nach der Injektion voraus; mehrere solcher Phasen lagen in einem dieser Fälle auch zwischen den späteren Regitinwellen.

In 4 weiteren Fällen war eine deutliche Änderung des Kurvenbildes nach Regitin nicht ersichtlich. Allenfalls erfolgte bei 2 Vp. eine flüchtige und leichte Amplitudenvergrößerung der kleinen Wellenbewegungen. Eine eindeutige Wirkung auf Peristaltik, Tonus und Passagezeit des Magen-Darmkanals konnten wir bei 2 Vp. auch röntgenologisch nicht feststellen; möglicherweise war hier unterschwellig dosiert worden (10 bzw. 12 mg intravenös).

Überzeugende Wirkungen sahen wir jedoch nach intravenösen Injektionen von 10 bzw. 20 mg Regitin während röntgenologischer Prüfung bei 2 Fällen von sogenanntem Kardiospasmus. Hier erfolgte unmittelbar nach

der Injektion eine sofortige Öffnung der vorher lange geschlossenen Kardia mit Auftreten tiefer und häufiger Peristaltikwellen und Tonussteigerung sowie ergiebiger Entleerung des dilatierten Oesophagus. Es handelt sich um Patienten mit idiopathischer Oesophagusdilatation (Abb. 7).

Fassen wir unsere Versuche zusammen, so scheint der wesentliche Unterschied der Pharmakodynamik von 12494 und Regitin im Dünndarm in der Beeinflussung der großen Wellenbewegungen zu

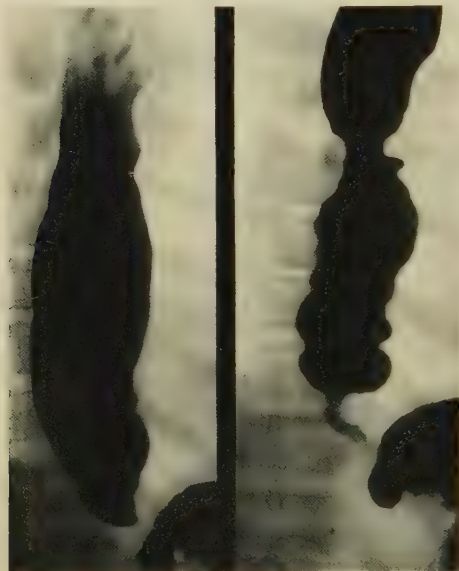


Abb. 7.

Regitinwirkung auf den Kardiospasmus bei idiopathischer Oesophagusdilatation (Prot. Nr. 118/52).

liegen. Diese werden durch 12494 für längere Zeit unterdrückt, durch Regitin gesteigert. Somit herrschen bei 12494 nach Abklingen der amotilen Phase die kleinen Wellenbewegungen vor, während sie beim Regitin durch die großen Wellenformen unterdrückt werden können. Der gegensinnige Effekt der Pharmaka auf die Förderung des Darmes führt zwanglos zu der Annahme, daß den großen Wellenbewegungen die eigentliche Transportwirkung zuzusprechen ist. Im Gegensatz zu der sehr konstanten und einheitlichen Wirkung von 12494 ist der Regitineffekt mitunter unsicherer bzw. gering.

Zusammenfassung.

1. An 31 Vp. wurden experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung der Dünndarmmotilität durch 12494 (Hoechst) und Regitin (Ciba) angestellt. Neben der graphischen Registrierung durch Ballonsonde kam die Röntgenmethode einschließlich der Röntgenkymographie zur Anwendung.

2. 12494 bewirkt in Dosen von 0,5 mg intravenös und 5 mg per os neben einer konstanten und anhaltenden Amotilität eine Unterdrückung der großen Wellenbewegungen des Dünndarmes. Röntgenologisch ist eine erhebliche Passageverzögerung und Tonusherabsetzung festzustellen.

3. Durch intravenöse Zufuhr von Regitin (durchschnittlich 0,3 mg/kg) entstehen gehäufte große Wellenbewegungen mit erhöhter Wanderungsgeschwindigkeit des Sondenballons.

4. Röntgenologisch ist durch Regitin eine Beeinflussung des sogenannten Kardiospasmus in Form von Öffnung der Kardia, Peristaltik-anregung und Entleerung des Oesophagus nachweisbar.

5. 12494 ist als wirksames Pharmakon bei hypermotil-dystonen Formenkreisen anzusehen, während mit Regitin die Behandlung der Hypomotilität aussichtsreich erscheint.

Literatur.

BRUMMER, P.: Acta med. scand. (Stockh.) **128**, 338 (1947). — Ann. med. int. fenn. **36**, 401 (1947). — DEMLING, L., H. KINZLMEIER u. N. HENNING: Gastroenterologia (Basel) **78**, 269 (1952). — FRANK, A., u. J. LEODOLDER: Wien. med. Wschr. **1950**, 337. — GANTER, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **10**, 384 (1924). — GROSS, F., J. TRIPOD u. R. MEIER: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 352. — LINDER, E.: Persönliche Mitteilung a. d. Pharm. Lab. Farb. Hoechst. — MILLER, T. G., and W. O. ABBOTT: Amer. J. Med. Sci. **187**, 595 (1934). — ROTHLIN, E.: Bull. schweiz. Akad. Med. Wiss. **2**, 1 (1946/47). — SIELAFF, H. J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 74 (1951). — Fortschr. Röntgenstr. **77**, 705 (1952). — Z. exper. Med. **120**, 585 und 599 (1953). — WEGELIUS, C.: Acta med. scand. (Stockh.) **128**, 349 (1947).

Dr. H. J. SIELAFF, Med. Univ.-Klinik Erlangen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. BRÜCKE).

Über die Auswertung von Ganglienblockern an der Mauspupille.

Von

H. G. SCHWARZACHER und CH. STUMPF.

(Eingegangen am 20. Februar 1954.)

R. WIEN und D. F. J. MASON haben die Wirkung von Ganglienblockern auf die Mauspupille untersucht und festgestellt, daß die durch diese Stoffe verursachte Vergrößerung des Pupillendurchmessers keine lineare Abhängigkeit vom Logarithmus der Dosis aufweist. N. D. EDGE stellte genaue Untersuchungen über den Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve bei Verwendung einer logarithmischen Dosenskala an. Er fand, daß diese bei verschiedenen Ganglienblockern eine Krümmung aufweist, die Abweichungen von der Linearität und Parallelität in höheren Dosenbereichen jedoch als lediglich zufallsbedingt angesehen werden können, so daß für diese Dosenbereiche eine Auswertung der Versuchsergebnisse nach den Methoden gestattet erscheint, wie sie bei Vorliegen von parallelen Regressionslinien angewendet werden.

Bei Untersuchungen der mydriatischen Wirksamkeit verschiedener Ganglienblocker an der Mauspupille konnten wir die Feststellung EDGES bestätigen, daß bei Anwendung einer logarithmischen Dosenskala die Dosis-Wirkungs-Kurve eine nach oben abnehmende Krümmung zeigt. Der Kurvenverlauf bei dieser Dosenskala ließ uns vermuten, daß eine lineare Beziehung zwischen Pupillendurchmesser und der Dosis selbst über ein weites Dosenbereich besteht. Wir haben daher die Linearität der Dosiswirkungsbeziehung bei logarithmischer und arithmetischer Dosenskala statistisch vergleichend geprüft.

Methodik.

Zur Bestimmung der mydriatischen Wirkung hielten wir uns im wesentlichen an die von P. PULEWKA angegebene Methodik. Als Versuchstiere dienten Albinomäuse beiderlei Geschlechtes im Gewicht von 16—20 g. Der Pupillendurchmesser wurde mit Hilfe einer Stereolupe (Reichert Binokularlupe, Obj. 1 : 4, Ok. 5x) mit Okularmikrometer bei konstanter Beleuchtung gemessen. Als Testsubstanzen verwendeten wir Hexamethonium, Pentamethonium, Tetraäthylammonium, Hexamethylen-bis-(äthyl-dimethylammonium) (R. WIEN und D. F. J. MASON) und N,N,N',N'-3-Pentamethyl-N,N'-diäthyl-3-aza-pentyl-diammonium („Pendiomid“); sämtliche Substanzen lagen in Form von Bromiden vor. Die genannten Verbindungen wurden in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und intraperitoneal injiziert, wobei bei konstantem Injektionsvolumen (0,1 ml pro 10 g Tiergewicht) die Konzentration variiert wurde. Pro Substanz wurden 7 Gruppen von je 20 Mäusen verwendet, wobei jeweils eine Gruppe unbehandelt blieb, während die anderen 6

verschiedene Dosen erhielten, die eine arithmetische Reihe bildeten. Die Pupillenweite wurde 10 min nach der Injektion gemessen, da zu diesem Zeitpunkt bei allen untersuchten Substanzen das Wirkungsmaximum erreicht ist.

Das Vorliegen eines linearen Verlaufes der Dosiswirkungsbeziehung unter Zugrundelegung einerseits der Dosen selbst und andererseits ihrer Logarithmen wurde mittels der Streuungserlegung (R. A. FISHER) geprüft, wobei jeweils die Streuung „Abweichungen von der Linearregression“ mittels eines *F*-Testes mit der Streuung „Innerhalb der Dosen“ verglichen wurde.

Ergebnisse.

Bei allen untersuchten Ganglienblockern zeigte sich bei der graphischen Darstellung der Dosiswirkungsbeziehung eine weitgehend lineare Abhängigkeit des Pupillendurchmessers von der Dosis innerhalb eines Bereiches von Null bis zu Dosen, die eine etwa 4—5fache Vergrößerung des Pupillendurchmessers verursachen. Höhere Dosen sind, abgesehen von möglichen Nebenwirkungen, auch deswegen schlecht verwertbar, da mit einem Anwachsen der Pupillenweite über ein zu großes Gesichtsfeld eine exakte Messung sehr erschwert wird.

Wir bringen im folgenden am Beispiel des Hexamethoniums die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse:

Tabelle 1.

Dosis in μg pro 10 g. . . .	0	25	50	75	100	125	150
Mittelwert des Pupillendurchm. in Teilstr. . . .	11,85	19,05	23,45	30,50	35,20	42,85	48,10
(Ein Teilstrich entspricht 0,019 mm.)							

1. Streuungserlegung bei Verwendung der Logarithmen der Dosen, ohne Berücksichtigung der Null-Dosis:

Bestandteil der Streuung	Anzahl der Freiheitsgr.	Summe der Abweichungsquadrate	Mittler. Abweichungsquadrat	<i>F</i>	<i>P</i>
Linearregression	1	11 371,21	11 371,21	9,59	< 0,001
Abw. von d. Linearregression	4	1 063,03	265,76		
Zwischen den Dosen	5	12 434,24	$s^2 = 27,72$		
Innerhalb der Dosen	114	3 160,35			
Total	119	15 594,59			

2. Streuungserlegung bei Verwendung der Dosis selbst, ohne Berücksichtigung der Null-Dosis:

Bestandteil der Streuung	Anzahl der Freiheitsgr.	Summe der Abweichungsquadrate	Mittler. Abweichungsquadrat	<i>F</i>	<i>P</i>
Linearregression	1	12378,97	12378,97	0,50	> 0,2
Abw. von d. Linearregression .	4	55,27	13,81		
Zwischen den Dosen	5	12434,24	$s^2 = 27,72$		
Innerhalb der Dosen	114	3160,35			
Total	119	15594,59			

3. Streuungszерlegung bei Verwendung der Dosis selbst, unter Berücksichtigung der Null-Dosis:

Bestandteil der Streuung	Anzahl der Freiheitsgr.	Summe der Abweichungsquadrate	Mittler. Abweichungsquadrat	F	P
Linearregression	1	20184,01	20184,01		
Abw. von d. Linearregression	5	58,14	11,63	0,45	$> 0,2$
Zwischen den Dosen	6	20242,15			
Innerhalb der Dosen	133	3405,00	$s^2 = 25,60$		
Total	139	23647,15			

Auch für die anderen, analog untersuchten Ganglienblocker ergaben sich bei logarithmischer Dosenskala (ohne Berücksichtigung der Null-Dosis) für die Abweichungen von der Linearregression P -Werte von $P < 0,01$ und bei arithmetischer Dosenskala (mit und ohne Berücksichtigung der Null-Dosis) für die gleiche Streuungskomponente P -Werte von $P > 0,2$.

Diskussion.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, daß für die mydriatische Wirkung der Ganglienblocker an der Mauspupille über einen weiten Dosenbereich eine lineare Abhängigkeit des Pupillendurchmessers von der Dosis besteht.

N. D. EDGE stellt fest, daß die bei logarithmischer Auftragung der Dosen an sich parabelförmig verlaufende Dosis-Wirkungs-Kurve im Bereich höherer Dosen von einer Linearen nicht mehr signifikant abweicht, so daß in diesen Dosenbereichen eine statistische Behandlung der Regressionslinie als Lineare möglich ist. Unter Umständen könnten jedoch im vorliegenden Fall gerade kleinere Dosen von Interesse sein, nämlich dann, wenn höhere Dosen wegen eventueller toxischer Wirkungen für die Untersuchung der Mydriasis ungeeignet sind. Unter Einbeziehung der niederen Dosen kann aber die Dosis-Wirkungs-Kurve bei logarithmischer Dosenskala, wie wir (1. Streuungszерlegung) in Übereinstimmung mit EDGE zeigen konnten, nicht mehr als Lineare angesehen werden. Darüber hinaus wird ganz allgemein eine Linearität der Dosiswirkungsbeziehung über einen möglichst weiten Bereich gefordert (GADDUM, 1931). Aus diesen Gründen glauben wir, daß es vorteilhafter ist, die durch Ganglienblocker bewirkte Pupillenerweiterung als Funktion der Dosis selbst zu behandeln.

Eine lineare Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis selbst findet sich vorwiegend bei mikrobiologischen Auswertungsmethoden und wurde von E. C. WOOD und D. J. FINNEY (1944) einer statistischen Berechnung zugänglich gemacht. Bei anderen pharmakologischen Auswertungsmethoden ist eine derartige Abhängigkeit relativ selten. J. H. GADDUM (1953) nennt die Wirkung von Vitamin D und Phosphaten bei Rachitis (O'BRIEN and MORGAREIDGE), von Kampfgasen auf den reziproken Wert der Überlebenszeit (BOX and CULLUMINE), von thyreotropen Hormon auf das Schilddrüsengewicht (BERGMAN and TURNER), von ACTH auf

das Nebennierengewicht (BATES, RIDDIE and MILLER) und von Androgenen auf die Kammlänge (EMMENS, 1939).

Solche Auswertungen werden mittels Berechnung der Schrägheitsverhältnisse durchgeführt (z. B. bei J. H. BURN et al., C. W. EMMENS, 1948, J. H. GADDUM, 1953). Unter der meist zutreffenden Voraussetzung, daß die Regressionslinien die Ordinate im Bereich des Normalwertes schneiden, wird die Durchführung eines 3 bzw. 5-Dosen-Testes empfohlen; dabei werden je 1 bzw. je 2 Dosen der beiden zu vergleichenden Präparate und in beiden Fällen zusätzlich die Werte einer unbehandelten Gruppe als „Null-Dosis“ verwendet. Der 3-Dosen-Test (mit den Dosen 0, S, U) ergibt das präziseste Resultat, erlaubt aber keine Prüfung der Annahme einer linearen Abhängigkeit. Der 5-Dosen-Test (mit den Dosen 0, S₁, S₂, U₁, U₂) ermöglicht die Prüfung dieser Annahme, er gibt aber weniger präzise Resultate (BURN u. Mitarb.). Da wir zeigen konnten, daß die Dosiswirkungsbeziehungen der mydriatischen Wirkung aller von uns untersuchter Ganglienblocker bei Anwendung einer arithmetischen Dosenskala auch unter Berücksichtigung der Werte der Null-Dosis keine signifikanten Abweichungen von der Linearität zeigen, halten wir für vergleichende Untersuchungen von Ganglienblockern an der Mauspupille die Anwendung eines 3-Dosen-Testes für angebracht. Bestehen jedoch Zweifel an den angeführten Voraussetzungen, ist die Anwendung eines 5-Dosen-Testes zu empfehlen.

Vorausgesetzt, daß in jeder Dosisgruppe gleich viel Beobachtungen vorliegen, kann das vereinfachte Verfahren von J. H. GADDUM (1953) angewendet werden, das die Berechnung der Fiduzialgrenzen der relativen Wirksamkeit nach der Formel von E. C. FIELLER beinhaltet. Die von uns nach diesem Verfahren aus 3-Dosen-Testen (20 Tiere pro Dosis) berechneten relativen Wirksamkeiten und deren Fiduzialgrenzen ($P = 0,05$) der einzelnen Ganglienblocker im Vergleich zu Hexamethonium (Hexamethonium = 1) ergeben folgende Werte:

Tabelle 2.

Substanz	Relative Wirksamkeit (Hexamethonium = 1)	Fiduzialgrenzen ($P = 0,05$)
Tetraäthylammonium	0,35	$\pm 0,04$
Pentamethonium	0,56	$\pm 0,07$
Pendiomid	1,42	$\pm 0,15$
Hexamethylen-bis-(äthyl-dimethyl- ammonium)	4,23	$\pm 0,38$

Bei allen Auswertungen war $g < 0,1$, so daß an Stelle der exakten FIELLERSchen Formel eine Näherungsformel angewendet werden konnte, die sich aus der exakten durch Einsetzen von $g = 0$ ergibt (FINNEY, 1947).

Ein Vergleich unserer Werte der relativen Wirksamkeiten mit denen EDGES zeigt eine völlige Übereinstimmung für Tetraäthylammonium; für Pentamethonium und Hexamethylen-bis-(äthyl-dimethylammonium)

liegen unsere Werte etwas höher. Vor allem aber schließen bei unseren Berechnungen die Fiduzialgrenzen einen wesentlich engeren Bereich ein, was nur zum Teil darauf zurückgeführt werden dürfte, daß EDGE bei seinen Auswertungen 6-Dosen-Teste verwendete.

Das von EDGE gefundene abweichende Verhalten der Dosis-Wirkungs-Kurve von Tetraäthylammonium gegenüber denen anderer Ganglienblocker, das er auf „gemischte pharmakologische Wirkungen“ dieser Substanz zurückführt, konnten wir nicht bestätigen. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß J. V. LUCO und J. MARCONI die mydriatische Wirkung des Tetraäthylammonium an der Katze als reine ganglienblockierende Wirkung — wenigstens bei niedrigeren Dosen — auffassen. Wenn man die lineare Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis selbst als Kriterium für den ganglienblockierenden Effekt gegenüber der linearen Abhängigkeit der Wirkung vom Logarithmus der Dosis, wie sie für atropinartig wirkende Substanzen bekannt ist (ING et al.), ansieht, würden auch unsere Befunde für eine rein ganglienblockierende Wirkung des Tetraäthylammonium sprechen. Allerdings muß betont werden, daß eine solche Aussage erst Beweiskraft erhält, sobald die Dosiswirkungsbeziehungen aller auf die Pupille wirkender Substanzen genügend bekannt sind.

Zusammenfassung.

Es konnte gezeigt werden, daß für die mydriatische Wirkung von 5 untersuchten Ganglienblockern auf die Mauspupille eine lineare Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis selbst über einen weiten Dosenbereich besteht. Aus diesem Grund wird für vergleichende Untersuchungen von Ganglienblockern an der Mauspupille die Durchführung der Auswertungen in Form eines 3 bzw. 5 Dosen-Testes und die Berechnung der Schrägheitsverhältnisse empfohlen.

Literatur.

- BATES, R. W., O. RIDDLE and R. A. MILLER: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **27**, 781 (1940). — BERGMAN, A. J., and C. W. TURNER: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **24**, 656 (1939). — BOX, G. E. P., and H. CULLUMBINE: *Brit. J. Pharmacol.* **2**, 27 (1947). — O'BRIEN, B., and K. MORGAREIDGE: *J. Nutrit.* **18**, 277 (1939). — BURN, J. H., D. J. FINNEY and L. G. GOODWIN: *Biological Standardization*. Oxford University Press, 1950. — EMMENS, C. W.: *Med. Res. Council Spec. Rep.*, Ser. **234**, 1 (1939). — *Principles of Biological Assay*. London: Chapman & Hall, 1948. — EDGE, N. D.: *Brit. J. Pharmacol.* **8**, 10 (1953). — FIELLER, E. C.: *Quart. J. Pharmacology*, London **17**, 117 (1944). — FINNEY, D. J.: *Nature* (Lond.) **153**, 284 (1944). — *J. Roy. Statist. Soc. Suppl.* **9**, 46 (1947). — FISHER, R. A.: *Statistical Methods for Research Workers*. Edinburgh: Oliver and Boyd, 1948. — GADDUM, J. H.: *Biochemic. J.* **25**, 1113 (1931). — *Pharmacol. Rev.* **5**, 87 (1953). — ING, H. R., G. S. DAWES and I. WAJDA: *J. of Pharmacol.* **85**, 85 (1945). — LUCO, J. V., and J. MARCONI: *J. of Pharmacol.* **95**, 171 (1949). — PULEWKA, P.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **168**, 307 (1932). — WIEN, R., and D. F. J. MASON: *Brit. J. Pharmacol.* **6**, 611 (1951). — WOOD, E. C.: *Nature* (Lond.) **153**, 84, 681 (1944).

Dr. H. G. SCHWARZACHER, Wien (Österreich), Pharmakolog. Institut der Univ.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt
und der Pharmakologischen Abteilung der Medizinischen Forschungsanstalt
der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen.

Identifizierung von Substanz DS mit 5-Oxytryptamin.

Von

WALTHER VOGT.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 23. Februar 1954.)

Unter der Bezeichnung „Substanz DS“ wurde ein atropinfein darm-
erregender Wirkstoff beschrieben, der sich bei Versuchen zur Reinigung
des „Darmstoffs“ neben diesem in wäßrigen Darmextrakten fand (VOGT,
1952). Auch in ungereinigten Präparaten der Substanz P (Ammonsulfat-
fällung aus gekochtem Darmextrakt ohne weitere Reinigung) ist Sub-
stanz DS vorhanden (VOGT, 1953 b). Die Mengenverhältnisse liegen dabei
nach unseren Ergebnissen so, daß der Substanz DS-Gehalt der rohen
P-Präparate für deren Wirkung auf Blutdruck und Darm von Kaninchen
bedeutungslos ist, aber der stärkste Faktor für die Wirkung auf das
Froschrectum und Rattenduoenum ist. Von Substanz P selbst, sowie
von Histamin und Darmstoff unterscheidet sich Substanz DS durch
anderes Verhalten in Papierchromatogrammen, Gegenstromverteilung
und durch quantitative Differenzen in der pharmakologischen Wirkung
auf verschiedene Organe. Eine Reihe von Eigenschaften deutete aber auf
eine Beziehung zu Enteramin (VOGT, 1953 b), das ERSPAMER unter anderem
in Acetonextrakten von Magen- und Darmschleimhaut fand (ERSPAMER,
1940, ERSPAMER und BORETTI, 1951) und mit 5-Oxytryptamin identifi-
zierte (ERSPAMER und ASERO, 1952). Wir haben deshalb — hauptsächlich
mittels Papierchromatographie — untersucht, ob es sich bei Substanz DS
um Enteramin handelt.

Ausgangsmaterial.

Substanz DS wurde teils direkt aus wäßrigen Kochextrakten von Rinder- und
Pferdedarmgewebe, teils aus Ammonsulfatfällungen solcher Kochextrakte (= Sub-
stanz P-Fällung) gewonnen. Die Herstellung entsprach im wesentlichen der früher
für ein Standardpräparat beschriebenen (1953 a). Zum Teil wurde dieses Präparat
selbst benutzt. Aus Substanz P-Präparaten wurde Substanz DS nach der 1953 (b)
beschriebenen Arbeitsweise durch Gegenstromverteilung abgetrennt. In den meisten
Fällen wurde eine weitere Reinigung durch Papierchromatographie angeschlossen
(Methodik unten), wobei sich 2 Entwicklungsflüssigkeiten bewährten: 1. Aqua dest.
und 2. n-Butanol, mit n/5 HCl gesättigt.

5-Oxytryptamin wurde als synthetisches Pikrat von Herrn Prof. V. ERSPAMER
freundlicherweise zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm besonders danke. Durch

Anionenaustausch in einer mit n-HCl vorbehandelten „sauren“ Al_2O_3 -Säule (G. M. SCHWAB u. M. DATTLER, 1937) wurde die Verbindung in das Chlorhydrat überführt und in dieser Form für die Papierchromatographie benutzt.

Methodik.

Zur eindimensionalen Chromatographie wurden je 2 Einzelflecke von 1. Substanz DS, 2. 5-Oxytryptamin und 3. Gemisch aus beiden Präparaten nebeneinander auf die Startlinie eines 30 cm hohen Papierstreifens Schleicher und Schüll 2043b gesetzt und aufsteigend entwickelt. Für zweidimensionale Chromatogramme wurden die gleichen Flecke — aber immer nur einer auf einen Bogen (30×29 cm) — aufgebracht und die so erhaltenen 6 Bogen, zu Zylindern gerollt, zusammen in 2 Richtungen entwickelt. (Über die allgemeine Methodik der ein- und zweidimensionalen aufsteigenden Papierchromatographie orientiert z. B. CRAMER, 1953). Nach Abschluß der Wanderung wurden die Papiere luftgetrocknet. Je 1 Chromatogramm von jeder Art wurde anschließend mit diazotiertem p-Nitranilin in saurer Lösung besprüht, Farberscheinungen beobachtet und darauf mit Sodalösung alkalisch gemacht. Das andere Chromatogramm wurde in einzelne Abschnitte zerlegt, diese mit Acetonwasser 1:1 extrahiert, die Lösungen eingedampft und die Rückstände zur biologischen Auswertung am isolierten Froschrectum in RINGER aufgenommen.

Zur Vorreinigung wurden die Substanz-DS-Extrakte in breiter Linie auf große Papierbögen aufgebracht, mit H_2O entwickelt, die wirksame Zone — die sich wie früher bereits beobachtet (VOGT, 1953b), immer am Start und dicht darüber befand — eluiert, und ein zweites Mal in breiter Linie, nun mit n-Butanol/n/5 HCl entwickelt. In diesem Chromatogramm lag die darmwirksame Zone im Bereich der RF-Werte 0,2—0,3. Der entsprechende Papierabschnitt wurde wieder extrahiert und der so erhaltene Substanz-DS-Extrakt für die papierchromatographischen Vergleiche mit Enteramin benutzt.

Ergebnisse.

Farbreaktionen. Mit saurer diazotierter p-Nitranilin-Lösung (GEBAUER-FULNEGG) bildet Oxytryptamin einen orange Farbstoff, der nach Besprühen mit Sodalösung nach violett umschlägt (ERSPAMER und BORETTI, 1951). Genau so verhält sich die darmaktive Zone von Substanz DS-Chromatogrammen. Auf Behandlung mit Alkali entwickeln beide Substanzen eine fahle Fluoreszenz.

Eindimensionale Chromatogramme. a) System: n-Butanol, mit n/5 HCl gesättigt. ERSPAMER benutzte für Routineversuche Butanol, mit n-HCl gesättigt. Wir reduzierten die Salzsäurekonzentration, um schonender zu arbeiten. Auf die Wanderungsgeschwindigkeit hatte diese Änderung keinen augenfälligen Einfluß. Die GEBAUER-FULNEGG-Reaktion ergab einen Farbfleck im Enteramin- und im Mischchromatogramm mit dem RF-Wert 0,23 und im DS-Chromatogramm bei RF 0,22. Nur die diesen Flecken entsprechenden Eluate der Parallelchromatogramme wirkten darmerregend.

b) System: Gemisch von 8 vol n-Butanol und 3 vol Methylamin 22%. Dieses System wurde auf Vorschlag von Herrn Professor ERSPAMER gewählt. RF-Werte (aus den Azofarbflecken gemessen): Enteramin 0,5;

Substanz DS 0,48; Gemisch 0,49. In diesen Zonen wurde auch die biologische Wirkung wiedergefunden.

c) System: H_2O . Sowohl Enteramin als auch Substanz DS bleiben — wohl infolge Adsorption — am Start sitzen.

Zweidimensionale Chromatogramme. Erstes System: n-Butanol, mit $n/5$ HCl gesättigt. Zweites System: Amylalkohol-Pyridin-Wasser (2 + 2 + 1 vol) (V. ERSPAMER UND BORETTI, 1951). Das Ergebnis ist in der Zeichnung wiedergegeben. Obwohl eine gewisse Differenz der R_F -Werte von Substanz DS und Enteramin besteht — sie erklärt sich aus dem

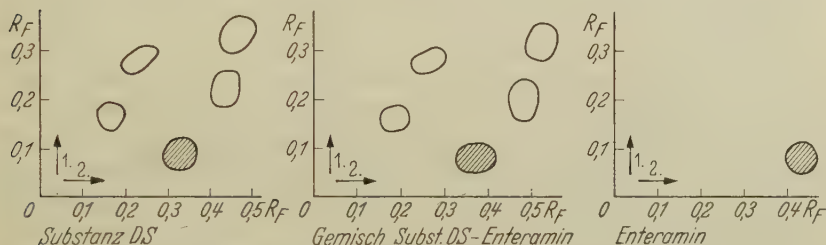


Abb. 1. Zweidimensionale Chromatogramme von Substanz DS (li.), 5-Oxytryptamin (Enteramin) (re.) und einem Gemisch beider Substanzen (Mitte). 1. Lauf: Obere Phase des Systems: n-Butanol, $n/5$ HCl. 2. Lauf: Amylalkohol-Pyridin-Wasser, 2 + 2 + 1 vol. Lage der durch Kupplung mit diazotiertem p-Nitranilin bei alkalischer Reaktion gebildeten Farbflecken (sämtlich rot- bis blau-violett).

Der schraffierte Fleck entspricht 5-Oxytryptamin bzw. der darmwirksamen Zone im Substanz-DS-Chromatogramm.

Vorhandensein von Verunreinigungen im DS-Präparat und imponderablen Ungleichmäßigkeiten während des Laufes — zeigt das Mischchromatogramm an der in Frage kommenden Stelle nur *einen* einheitlichen Fleck. Die Eluate der dem Enteramin entsprechenden Zone enthielten auch die pharmakologische Wirkung.

Ein orientierender Vergleich der Wirkungsstärken von Substanz DS und Enteramin — aus den zweidimensionalen und den Butanol-Methylaminchromatogrammen gewonnen — ergab größenordnungsmäßig am Froschrectum, Rattenduum und Rattenuterus im Oestrus das gleiche Verhältnis.

Pharmakologische Versuche.

Während die papierchromatographischen Untersuchungen abgeschlossen wurden, gaben FELDBERG u. TOH (1953), sowie DAGLIESH, TOH u. WORK (1953) den Nachweis von 5-Oxytryptamin im Darmgewebe bekannt. Zur Identifizierung machten diese Autoren unter anderem von einer Beobachtung von GADDUM (1953) Gebrauch, wonach hohe Dosen Oxytryptamin (oder Tryptamin) eine spezifisch gegen Tryptamin derivative gerichtete Tachyphylaxie erzeugen. Für eine gewisse Zeit werden die Testorgane dadurch gegen Oxytryptamin unempfindlich. Diese spezifische Reaktion sowie der von ERSPAMER (1953) beschriebene Antagonismus von einigen sympathicolytischen Stoffen gegen Oxytryptamin wurden ergänzend zur Charakterisierung von Substanz DS herangezogen.

Durch synthetisches Enteraminpikrat (9×10^{-7}) wurde ein Froschrectum nicht nur gegen Enteramin selbst, sondern auch gegen Substanz DS unempfindlich. Nach mehrfachem Spülen und etwa $\frac{1}{2}$ Std Wartezeit waren beide Stoffe wieder wirksam. Dihydroergotamin ($4,5 \times 10^{-6}$) unterdrückte nach einer Latenz von mehr als 10 min die Wirkung einer vorher stark wirksamen Dosis Enteramin (9×10^{-9}) und einer entsprechenden Menge Substanz DS vollkommen. Dagegen blieb Darmstoff, zum Vergleich angewandt, wirksam. Nach ERSPAMER blockiert auch Dibenamin die Enteraminwirkung und die von ihm bevorzugten Rattenduodenum- und Uteruspräparate. Am Froschrectum konnten wir das nicht bestätigen. Dibenamin war hier ohne Einfluß auf die DS-Wirkung, aber auch Enteramin blieb wirksam.

Bei keinem der angestellten Experimente war somit irgendein Unterschied zwischen Substanz DS und 5-Oxytryptamin festzustellen. Außer Substanz DS wurde keine darmerregende Substanz gefunden, die mit 5-Oxytryptamin hätte identisch sein können. Wir schließen daraus, daß es sich bei dem bisher als Substanz DS bezeichneten Wirkstoff um 5-Oxytryptamin handelt.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe von Papierchromatographie und ergänzenden pharmakologischen Versuchen wurde gefunden, daß es sich bei dem bisher als Substanz DS bezeichneten darmerregenden Stoff aus Darmextrakten um 5-Oxytryptamin handelt.

Literatur.

- CRAMER, F.: Papierchromatographie, 2. Aufl., Weinheim 1953. — DAGLIESH, C. E., C. C. TOH and T. S. WORK: *J. of Physiol.* **120**, 298 (1953). — ERSPAMER, V.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **196**, 343 (1940); *Arch. internat. Pharmacodynamie* **93**, 293 (1953). — ERSPAMER, V., et G. BORETTI: *Arch. internat. Pharmacodynamie* **88**, 296 (1951). — ERSPAMER, V., and B. ASERO: *Nature (Lond.)* **169**, 800 (1952). — FELDBERG, W., and C. C. TOH: *J. of Physiol.* **119**, 352 (1953). — GADDUM, J. H.: *J. of Physiol.* **119**, 363 (1953). — SCHWAB, G. M., u. M. DATTLER: zit. aus RAUEN, H. M., u. L. WOLF: *Z. physiol. Chem.* **283**, 233 (1948). — VOGT, W.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **216**, 203 (1952); **219**, 138 (1953) (a); **220**, 365 (1953) (b).

Dr. W. VOGT, Göttingen, Med. Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft.

Aus dem Institut für normale und pathologische Physiologie der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. M. SCHNEIDER).

Über den Einfluß der Temperatursenkung auf die Erholungsfähigkeit des Warmblütergehirns*.

Von

H. GÄNSHIRT, H. HIRSCH, W. KRENKEL, M. SCHNEIDER und W. ZYLKA.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Dezember 1953.)

In früheren Untersuchungen^{11, 12, 13, 14} über die Erholungsvorgänge am Warmblütergehirn nach perakuter kompletter Ischämie konnte gezeigt werden, daß die Erholungslatenz als ein Maß für die Vulnerabilität des Hirns gelten kann. Unter Erholungslatenz verstehen wir die Zeit, die vom Wiederingangkommen der Durchblutung nach deren Aufhebung bis zum Wiederbeginn der jeweils geprüften Funktion verstreicht. Diese Erholungslatenz ist kürzer als die eigentliche Erholungszeit, d. h. die Zeit bis zur vollen Erholung der geprüften Funktion; sie ist aber mit ihr eng korreliert. Es fand sich eine Abhängigkeit der Erholungslatenz bei gleichbleibender Temperatur von den folgenden Faktoren: 1. Dauer der kompletten Ischämie, 2. Zahl der Ischämien und Länge der Erholungspausen, 3. Höhe des Blutdruckes. Übereinstimmend mit anderen Autoren^{32, 42} fand sich, daß bei einer Ischämie von 3—4 min die Wiederbelebungszeit erreicht war, das ist die Zeit, in der die Durchblutung unterbrochen sein kann, ohne daß es zu irreversiblen Schäden kommt. Auf die wichtige Rolle der Restdurchströmung haben wir bereits früher hingewiesen¹²; wir werden ausführlich in einer besonderen Arbeit darauf eingehen¹⁶. Mit einer stark verringerten Blutzufuhr vermag das Gehirn unter Umständen noch seinen „Strukturumsatz“ zu decken und besitzt dann eine unendliche Wiederbelebungszeit, sofern diese nicht durch neu hinzutretende Faktoren wieder verkürzt wird.

Unsere Fragestellung lautet nun: Auf welchem Wege kann die Vulnerabilität des Gehirns gegenüber kompletter Ischämie verringert werden? Hier ist vor allem an eine Senkung der Temperatur zu denken.

Von zahlreichen Autoren^{4, 9, 17, 29, 35, 36} wurde eine Verlängerung der Überlebenszeit bei Nagern beschrieben, wenn die Temperatur vor einer Anoxie oder Hypoxie gesenkt worden war. Daß auch Hirngewebsschnitte von Ratten *in vitro* durch Kälte (bei 0,2° C) weniger geschädigt wurden als in Wärme (40,7° C), berichteten FIELD u. Mitarb.⁷.

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Die Temperatur des Organismus kann aber nicht beliebig gesenkt werden: Vom Menschen ist nur in seltenen Fällen ein Überleben berichtet worden, wenn die Kerntemperatur auf 24°C abgesunken war^{10, 21}. Gewöhnlich trat nach einigen Stunden der Tod ein, sofern die Abkühlung mehrere Stunden gedauert hatte. Nach FUHRMANN und FIELD überlebten nicht-winterschlafende Tiere Temperaturen von $15\text{--}20^{\circ}\text{C}$ nicht, wobei Hund und Kaninchen am frühesten starben. WINTERNITZ berichtete bereits 1894, daß bei Hunden die terminale Lähmung bei einer Körpertemperatur von $22\text{--}19^{\circ}\text{C}$ eintrat. Andere Autoren^{18, 20, 27} fanden ähnliche Todestemperaturen bei Hunden, und zwar auch dann, wenn ein künstliches Herz-Lungen-System verwendet wurde (GOLLAN¹⁸).

Seit den ersten Untersuchern besteht fast allgemeine Übereinstimmung darin, daß der akute Kältetod primär durch eine Hemmung zentralnervöser Funktionen verursacht sei^{3, 20, 40, 41, 44, 46}. Unter den neueren Autoren haben vor allem GROSSE-BROCKHOFF u. SCHOEDEL diesen Standpunkt vertreten. Demgegenüber sind LUTZ und v. WERZ der Ansicht, daß der Kältetod ein Anoxietod sei. Eine weitere Prüfung dieser Frage schien uns notwendig.

Soweit Warmblüter bei Abkühlungsversuchen verwendet wurden, trat stets die Temperaturregulation als wesentlicher Faktor in Erscheinung. Wohl vermag ein starker Schüttelfrost die Kühlungsrate (Abkühlung in Grad C/min) signifikant zu verkleinern⁴⁵, allein eine Umgebungstemperatur von $2\text{--}10^{\circ}\text{C}$ läßt auch die Kerntemperatur der Tiere weiter absinken, d. h. es kommt zur Insuffizienz der Temperaturregulation. Beim Ganztier wird vor allem aber das Herz-Kreislauf-System und die Atmung insuffizient^{19, 21, 44}, wenn die Kerntemperatur unter eine für jede Tierart differente kritische Höhe abgesunken ist. Eine völlige restitutio ad integrum ist dann nicht mehr möglich, sofern nicht eine sofortige Wiedererwärmung erfolgt.

Um die erwähnten nachteiligen Folgen der Temperatur- und Kreislaufregulation auszuschalten, führten wir unsere Versuche wiederum am isolierten Katzenkopf durch. Die Zeiten für die Überlebenszeit und Erholungslatenz werden ein Maß für die Hirnvulnerabilität bei Temperaturen zwischen 38 und 22°C sein. Wir werden zeigen können, daß sich bei einer Temperatur von 30°C ein Minimum für die Erholungslatenz findet. Unterhalb 28° nimmt sie wieder zu*. Auch der O_2 -Verbrauch zeigt unter 30° einen stärkeren Abfall als nach der RGT-Regel zu erwarten gewesen wäre. Über die Form des Hirnpotentialbildes hinsichtlich Frequenz und Amplitude bei verschiedenen Temperaturen werden wir in einer folgenden Arbeit berichten¹⁵. In dieser Mitteilung diene das EEG nur als Null-Methode.

* Eine kurze Zusammenfassung wurde von W. KRENKEL zur Tagung der Deutschen Physiologischen Gesellschaft in Hamburg 1952 gebracht [Ber. Physiol. **154**, 268 (1952)].

Methodik.

Es wurde wie bei unseren früheren Versuchen die Methode des isolierten Katzenkopfes angewandt, der durch eine Carotis-Anastomose in Verbindung mit einem Spendertier stand (Abb. 1). Die Temperaturmessung wurde mit NTC-Widerständen durchgeführt. Diese sind Halbleiter und ändern bei verschiedener Temperatur ihren Widerstand, dessen Größe durch ein Spiegelgalvanometer in einer Brückenschaltung angezeigt wurde. Die Eichung der Empfindlichkeit erfolgte so, daß einer Temperaturdifferenz von $1/10^{\circ}\text{C}$ etwa 1,5–2 mm auf der Skala entsprachen. Vor und nach

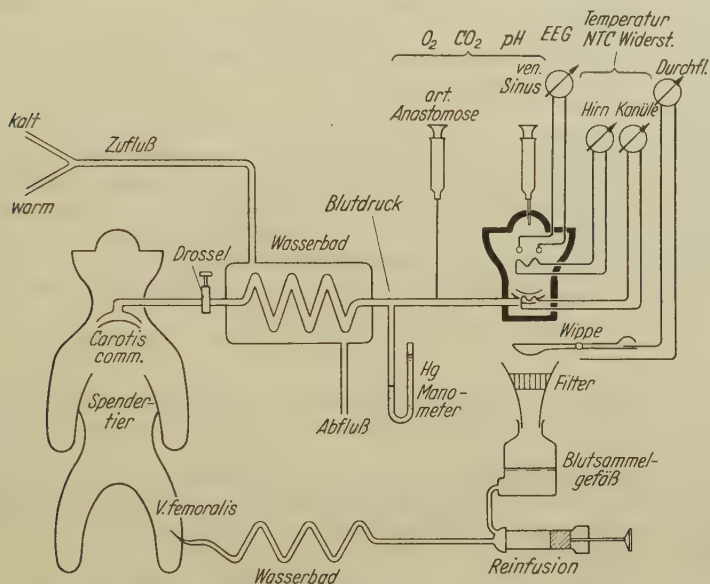


Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchsanordnung. Aus den Aa. carotides eines Spendertieres wird das Blut durch ein Wasserbad geleitet, das nach Bedarf mit Warm- oder Kaltwasser gefüllt werden kann. Kurz vor Eintritt des Blutes in den isolierten Kopf befinden sich die arterielle Blutentnahmestelle und ein NTC-Widerstand zur Messung der Bluttemperatur. Das venöse Blut wird aus dem Sinus sagittalis entnommen; ferner sind in den Interhemisphärenspalt des isolierten Kopfes ein zweiter NTC-Widerstand und in das Hirn die Ableitelektroden für das EEG eingelassen. Das aus den offenen Venen des Kopfes ausfließende Blutvolumen wird über eine Wippe registriert und in einer MARIOTTESchen Flasche gesammelt. Die Reinfusion in das Spendertier erfolgt durch die V. femoralis nach vorheriger Aufwärmung auf 37° .

jedem Versuch wurden jeweils Prüfeichungen vorgenommen. Die Hirntemperatur wurde im Interhemisphärenspalt gemessen; ein zweiter NTC-Widerstand befand sich im Blut unmittelbar vor den Carotidenstümpfen des isolierten Kopfes. Die Temperaturregelung erfolgte in der Weise, daß das Wasserbad je nach Bedarf mit Eis- oder Warmwasser beschickt werden konnte.

Der Erfolg der Temperaturänderung ließ sich rasch an der veränderten Bluttemperatur ablesen. Die Geschwindigkeit, mit der die Hirntemperatur nachfolgte, war einmal abhängig von der Größe des Blutdurchflusses und zum anderen von der Differenz zwischen Blut- und Hirntemperatur sowie der Differenz zwischen Raum- und Kopftemperatur. Zwischen 40 und 35°C trat die Abkühlung sehr rasch ein, bei 3° Temperaturdifferenz Kopf-Blut in etwa $45\text{--}60\text{ sec}/^{\circ}\text{C}$, zwischen $25\text{--}20^{\circ}\text{C}$ wurden dagegen $2\text{--}3\text{ min}$ benötigt.

Die Abklemmung der Anastomose wurde ausgeführt, nachdem die Hirntemperatur mindestens eine Minute konstant auf der neu eingestellten Höhe stehengeblieben war. Die Pausen zwischen den Ischämien waren infolge der Zeit, welche die Temperaturänderung benötigte, etwas länger als in unseren früheren Versuchen und betrugen in der Regel 8—10 min, in keinem Fall jedoch weniger als 5 min.

Bestimmt wurden:

1. die Überlebenszeit = Die Zeit vom Beginn der kompletten Ischämie bis zum Erlöschen der Spontanaktivität im EEG,

2. die Erholungslatenz = Die Zeit vom Ende der Ischämie (= Öffnung der Anastomose) bis zur Wiederkehr der Hirnpotentiale.

Unter der Wiederbelebungszeit verstehen wir diejenige Zeit, die eine totale perakute Ischämie dauern darf, damit noch eine Wiederbelebung sämtlicher Funktionen eintritt.

Die Blutgasbestimmung erfolgte nach VAN SLYKE. Entnommen wurde das Blut arteriell aus der Anastomose, venös aus dem Sinus sagittalis des isolierten Kopfes. Der O_2 -Verbrauch des isolierten Katzenhirns wurde folgendermaßen berechnet: Der Durchfluß durch den isolierten Kopf wurde zu 50% als Hirndurchfluß angenommen. Damit ergaben sich Werte von $45 \pm 10 \text{ cm}^3/100 \text{ g Hirn/min}$, die annähernd mit den auf anderem Wege gewonnenen übereinstimmen. War dann die arterio-venöse Sauerstoffdifferenz bekannt, so ließ sich der O_2 -Verbrauch berechnen nach:

$$\frac{\text{Durchfluß}/100 \text{ g Hirn/min} \times \text{AVDO}_2}{100} = \text{O}_2\text{-Verbrauch}/100 \text{ g/min}.$$

Zur Berechnung des O_2 -Drucks wurde neben dem Gehalt an O_2 im arteriellen und venösen Blut und der O_2 -Kapazität auch der p_H -Wert mit der Glaselektrode bestimmt.

Die Ableitung der Hirnpotentiale erfolgte bipolar (Nadelelektroden) mit dem 4fach direktanschreibenden Elektroencephalographen der Firma Schwarzer/Alfeld. Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde nach den Tabellen von FISHER und YATES durchgeführt.

Ergebnisse.

Den im folgenden mitgeteilten Befunden liegen die Ergebnisse von 11 Versuchsreihen zugrunde. Bei 2 Tieren wurden Ischämien nur zwischen 38 und 26° C gesetzt, bei 5 weiteren wurde die Temperatur bis auf 22° C erniedrigt. Bei den übrigen 4 Versuchen wurden nur Stoffwechseluntersuchungen im Temperaturbereich von 40—20° ausgeführt.

Die Abb. 2 und 3 zeigen zunächst das methodische Vorgehen und die Ergebnisse in 2 Einzelversuchen bei Senkung der Temperatur von 37,1° C auf 29,4 bzw. 23,5° C. Es ist zu ersehen, daß die Überlebenszeit mit sinkender Temperatur verlängert wird, die Erholungslatenz dagegen zwar zunächst verkürzt, dann aber wieder verlängert wird. Die Auswertung der gesamten Versuche ergab das folgende:

Während wir früher bei normaler Temperatur eine straffe Beziehung zwischen der Überlebenszeit und Erholungslatenz beschrieben haben, gilt dies nicht mehr bei veränderter Temperatur. Der errechnete Korrelationskoeffizient $r = 0,248$ ist statistisch nicht signifikant, nur zu 6%

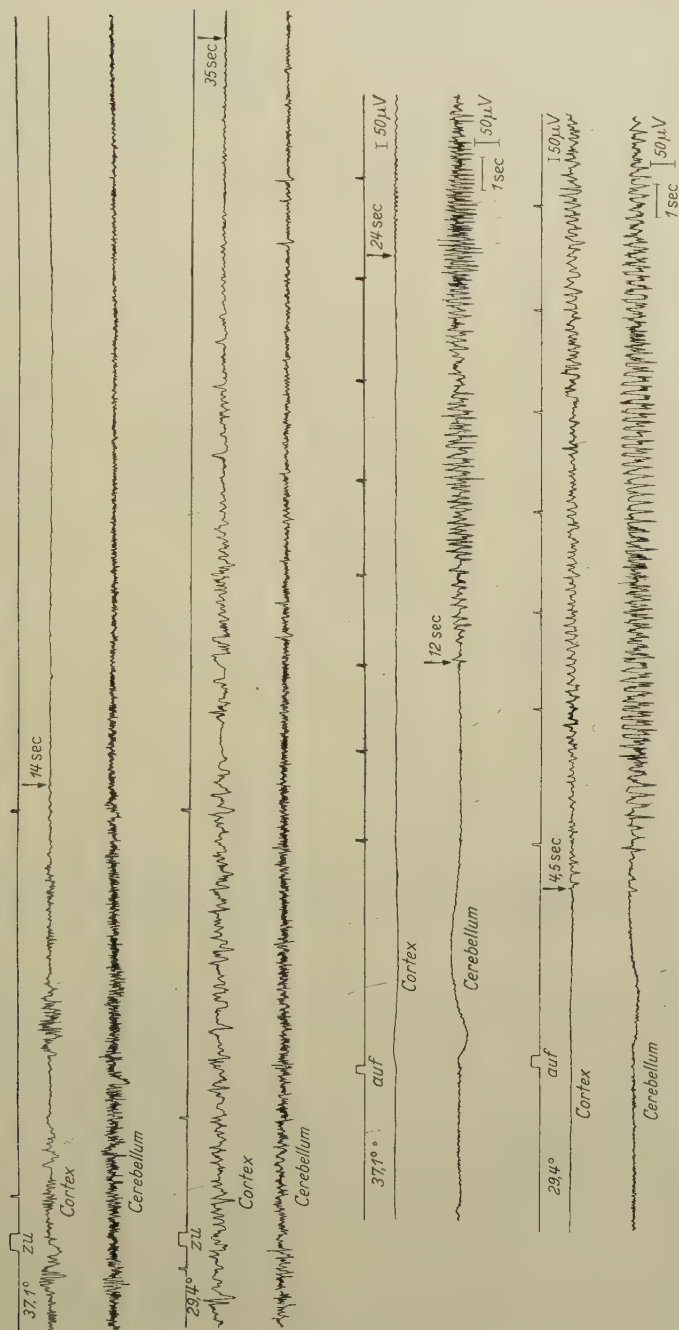


Abb. 2. Überlebenszeit und Erholungslatenz von Großhirnrinde und Kleinhirn bei Temperaturen von 37,1 und 29,4° C. Prüfung durch Registrierung der elektrischen Spontanschwankungen bei Setzung einer perakuten totalen Ischämie durch Abklemmung der Anastomose zu einem vollständig isolierten, von einem Spender durchströmten Katzenkopf. Bei „zu“ Abklemmung, bei „auf“ Wiederöffnen der Anastomose nach einer Abklemmdauer von 1 min. a) (oben) Die Überlebenszeit der Großhirnrinde wird von 14 sec bei 37,1° auf 35 sec bei 29,4° verlängert. b) (unten) Fortsetzung des gleichen Versuchs. Kurvenstück von der 35. — 55. sec ausgeschnitten. Die Erholungslatenz bei totaler Ischämie von 1 min Dauer wird von 12 sec bei 37,1 auf 4,5 sec bei 29,4° C. verkürzt.

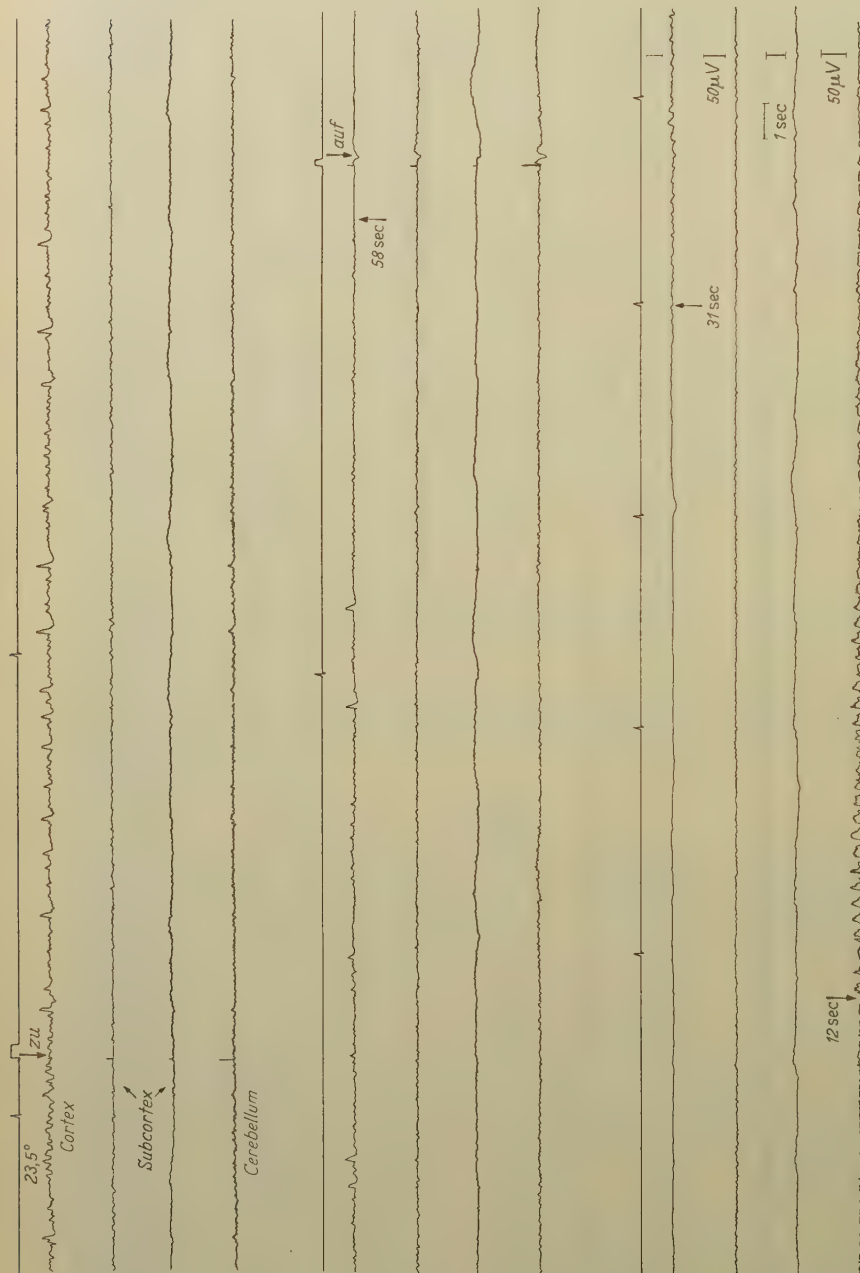


Abb. 3. Überlebenszeit und Erholungszeit von Cortex und Cerebellum bei 23,5° C, in gleicher Weise gemessen wie in Abb. 2. Kleine träge Potentiale sind in der Großhirnrinde noch bis zur 58. sec nach Abklemmung der Anastomose nachweisbar (= Überlebenszeit). Die Erholungszeit nach kompletter Ischämie von 1 min Dauer beträgt für den Cortex 31 sec; im Cerebellum sind nach 12 sec wieder große träge Potentiale abzuleiten. Gegenüber der Temperatur von 29,4° C in Abb. 2 ist die Erholungszeit also wieder verlängert.

läßt sich die Streuung der Erholungslatenz aus der Überlebenszeit ableiten. Die Korrelation zwischen Überlebenszeit und Erholungslatenz ist also durch einen zusätzlichen Faktor zerstört worden, nämlich die veränderte Temperatur.

1. *Die Überlebenszeit.* In der Abb. 4 sind die Werte für die Überlebenszeit (ÜbZ) der Hirnrinde aller Tiere aufgetragen. Bei näherer Betrachtung — unter Berücksichtigung der Streuung zwischen den Tieren —

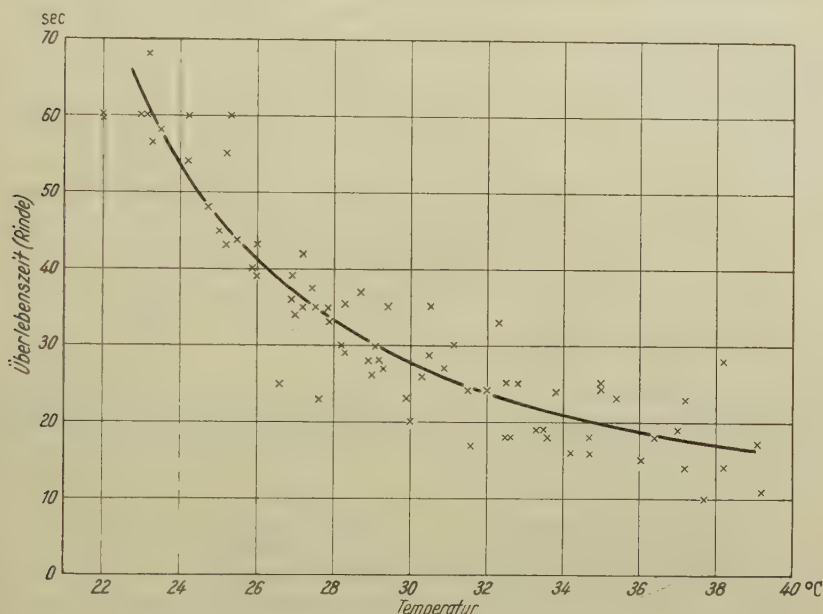


Abb. 4. Abhängigkeit der Überlebenszeit der Großhirnrinde von der Temperatur bei kompletter perakuter Unterbrechung der Blutzufuhr zum isolierten Katzenkopf (5 Versuche). Fortlaufender, zunehmend steiler werdender Anstieg der Überlebenszeit mit Senkung der Temperatur. Bei 23° erlöschen die Potentiale während einer Ischämie von 1 min Dauer nicht mehr.

finden wir ein langsam ansteigendes Kurvenstück zwischen 39 und 29° C. Mit weiterfallender Temperatur werden die Zeiten rasch länger, bis schließlich bei 23° C die Rindenpotentiale etwa für die Dauer einer 1 minütigen Ischämie nicht mehr erlöschen. Ischämien unterhalb 22° C wurden nicht ausgeführt, weil das Potentialbild bei dieser Temperatur nicht mehr kontinuierlich war. Eine exakte Bestimmung der Überlebenszeit und Erholungslatenz wäre dann nicht möglich gewesen. Zwischen 39 und 29° betrug der Zuwachs der ÜbZ 90%, unterhalb 29° wurde dieser jedoch rasch größer. Bei 23° betrug die Verlängerung der ÜbZ gegenüber 33° beinahe 200%.

2. *Die Erholungslatenz.* Die Erholungslatenzwerte (EL) der Großhirnrinde sämtlicher Versuche zeigt die Abb. 5. Bei 37° Hirntemperatur ergab

sich ein EL von etwa 24 sec nach perakuter Ischämie von 1 min Dauer. Mit sinkender Kopftemperatur nahm die EL erwartungsgemäß ab, und

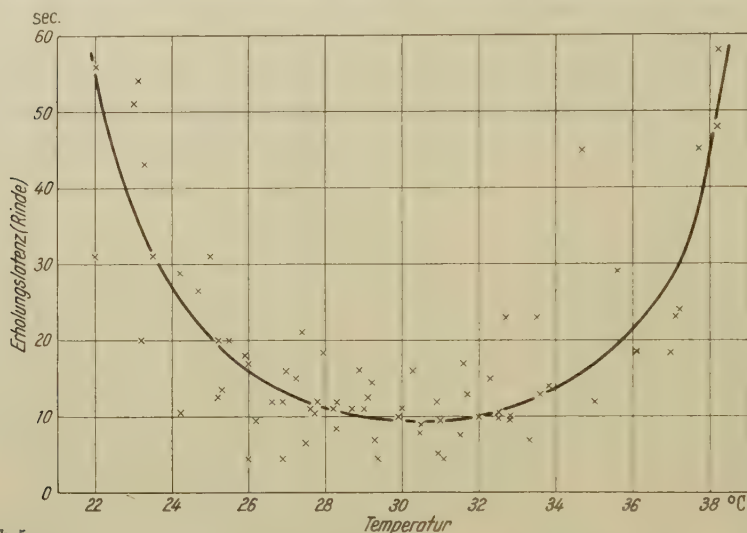


Abb. 5.

Abhängigkeit der Erholungslatenz der Großhirnrinde von der Temp. nach perakuter Unterbrechung der Blutzufuhr zum isolierten Katzenkopf für 1 min (5 Versuche). Die Erholungslatenz fällt mit sinkender Temperatur zunächst exponentiell ab, um nach Durchlaufen eines Minimums bei rund 30° wieder exponentiell anzusteigen. — Die Streuung der Punkte ist konstitutionell bedingt (vgl. Abb. 6).

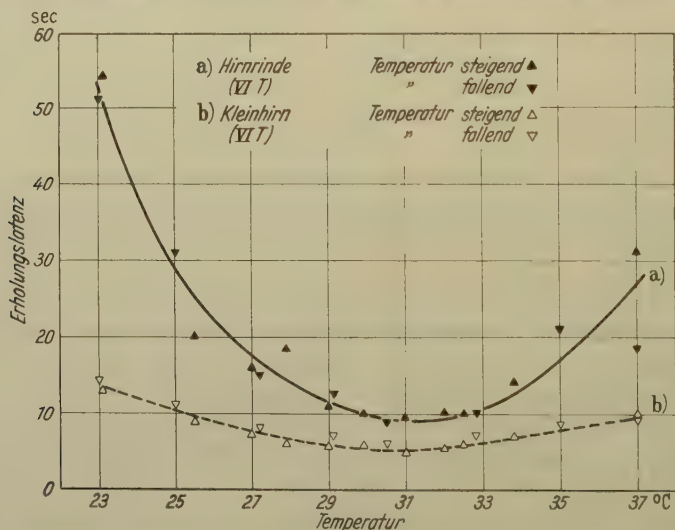


Abb. 6. Wie Abb. 5, Erholungslatenzwerte jedoch nur aus einem Versuch. a) Großhirnrinde, b) Kleinhirn. Die Streuung der Punkte ist wesentlich geringer als in Abb. 5. Die bei aufsteigender Temperatur erhaltenen Zeiten ($\triangle$) decken sich weitgehend mit den bei absteigender Temperatur gewonnenen Werten (∇). Auch beim Kleinhirn findet sich eine parabelähnliche, aber wesentlich flachere Kurve als bei der Großhirnrinde. Die kürzesten Erholungslatenzen werden ebenfalls zwischen 28–33° gefunden. (Gemessen wurde der Beginn der Spindeln in der Erholungslatenz.)

zwar erfolgte diese Abnahme angenähert in Form einer e-Funktion. Zwischen 32 und 28° wurde ein Minimum der Erholungslatenz erreicht, d. h. bei dieser Temperatur war die EL am kürzesten und damit die Vulnerabilität des Hirns für Ischämie am geringsten. Bei tieferen Temperaturen trat wieder eine Verlängerung der EL ein, so daß bei 22° die EL etwa so lang war wie bei $38,5^\circ$. Oberhalb 38° bzw. unterhalb 22° näherte sich die Kurve rasch dem Unendlichen, d. h. die tödliche Temperaturgrenze wurde dann rasch erreicht. Die verhältnismäßig große Streuung der Punkte beruht auf der individuellen unterschiedlichen Konstitution, wie aus der Abb. 6, der nur ein Versuch zugrunde liegt, hervorgeht. Ließ man die Kopftemperatur wieder ansteigen, so lagen die dann gemessenen Werte auf derselben Parabel. Bei dem Versuch der Abb. 6 lag das Minimum der Erholungslatenz zwischen $29,5$ und $32,5^\circ$.

Faßt man alle Minima zusammen, so ergibt sich ein Mittelwert von $29,4 \pm 1,03^\circ$. Bei drei Tieren lag die kürzeste EL um 10 sec, bei einem weiteren war sie sogar bis auf 4,5 sec gesunken, bei dem letzten Tier allerdings nicht unter 14,5 sec gefallen. Gegenüber den Zeiten, die wir bei der normalen Kopftemperatur von 37° zu sehen gewohnt sind (25 sec), ergibt sich im Bereich des Minimums eine Verkürzung auf durchschnittlich etwa 40% (10 sec).

Das für die Großhirnrinde Gesagte gilt in analoger Weise auch für das *Kleinhirn*. Wie Abb. 6 erkennen läßt, verläuft die Temperaturabhängigkeit der Erholungslatenz auch hier etwa nach einer Parabel. Die absolute Differenz ist aber kleiner.

3. *Der Sauerstoffverbrauch.* Bei vier Tieren wurde nach der oben beschriebenen Methode der O_2 -Verbrauch bei Temperaturen zwischen 20 und $40^\circ C$ bestimmt. Dabei ergab sich ein O_2 -Verbrauch von $3,2 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$ Hirn/min bei $37,5^\circ C$. Mit fallender Temperatur sank auch der O_2 -Verbrauch. Wie aus der Abb. 7 hervorgeht, besteht zwischen der Kopftemperatur und dem O_2 -Verbrauch des isolierten Katzenkopfes eine lineare Beziehung. Bei $27,5^\circ C$ wurde noch ein O_2 -Verbrauch von $1,6 \text{ cm}^3$ gemessen; dies entspräche einem Q_{10} von 2. Bei der Berechnung des Q_{10}

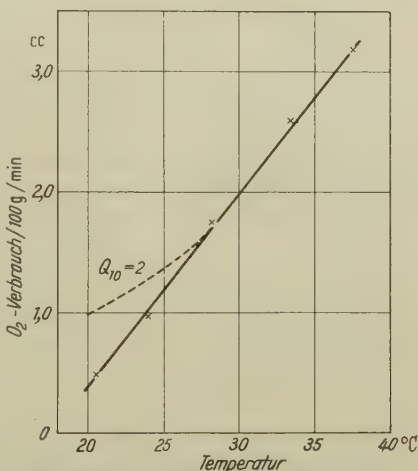


Abb. 7. Sauerstoffverbrauch des Katzengehirns in Abhängigkeit von der Temperatur. Es ergibt sich eine lineare Abnahme zwischen 38° und $20^\circ C$. Unterhalb 28° sinkt der O_2 -Verbrauch stärker als nach der RGT-Regel mit einem $Q_{10} = 2$ zu erwarten wäre. Die Angabe eines Q_{10} wäre also irreführend.

(PLANCK) ergaben sich jedoch von 37° — 30° etwa gleichbleibende Werte, $Q_1 = 1,05$ — $1,07$. Zwischen 30 und 20° stieg der Q_1 rasch an und erreichte bei 20° C einen Wert von $1,40$. Daraus erhellt, daß auch der Q_{10} nicht konstant bleibt. Es scheint uns daraus hervorzugehen, daß mehrere Vorgänge mit unterschiedlicher Temperaturabhängigkeit miteinander interferieren. Die Angabe eines Q_{10} ist deshalb nicht möglich, ja geradezu irreführend. Setzt man den Log. des O_2 -Verbrauchs in Beziehung zum

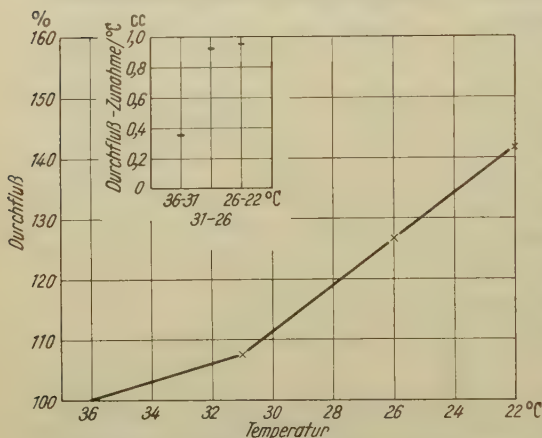


Abb. 8. Durchblutung des isolierten Katzenkopfes bei abnehmender Temperatur (bei gleichbleibendem Durchströmungsdruck; Durchfluß bei 36° C = 100 % gesetzt). Mittelwerte von 4 Versuchen. Während zwischen 36 und 31° nur eine Zunahme um 7,5 % erfolgt, ist diese bei weiterer Temperatursenkung wesentlich steiler. Bei 22° ist die Durchblutung gegenüber der Norm auf 142 % gestiegen. Die Einfügung (Abb. 8a) zeigt die Durchflußzunahme pro Grad Celsius. Bei einer Temperatursenkung bis 31° beträgt diese nur $0,36$ cm³, zwischen 31 und 26° dagegen $0,92$ cm³/°C.

reziproken Wert der absoluten Temperatur, so ergibt sich bei etwa 28° C ein Sprung („break“ [CROZIER]). Wie wir in einer folgenden Mitteilung zeigen werden, findet sich ein solcher „Bruch“ auch in der Frequenz- und Amplitudenanalyse.

Nach LUTZ und v. WERZ ist der Kältetod als Anoxiefolge aufzufassen. Infolge einer temperaturbedingten Abgabehemmung des O_2 (BERT, HÜFNER, BARCROFT) soll das O_2 -Angebot hinter dem O_2 -Bedarf des Organismus zurückbleiben; es soll zu einer „ O_2 -Schere“ (v. WERZ) bei 33 — 31° kommen. In unseren Versuchen wird nun allein der isolierte Katzenkopf

untersucht, während nach v. WERZ die Hypoxie gerade dadurch eintreten soll, daß der Gesamtorganismus eine Frierreaktion und dadurch einen gesteigerten O_2 -Bedarf aufweist, was in unsern Versuchen fehlt. Zwar haben GROSSE-BROCKHOFF und SCHOEDEL gezeigt, daß die arterielle O_2 -Sättigung des Blutes während der Frierreaktion nur ganz unbedeutend absinkt. Trotzdem wurden unsere Versuche so fortgesetzt, daß jeweils eine Minute vor und nach einer Ischämie der Blutdruck in der Carotis anastomose auf eine Höhe von 70 mm Hg gedrosselt wurde, so daß eine hypoxische Hypoxydose eintrat (venöse Hypoxie). Damit kommt es, wie früher dargestellt, zu einer signifikanten Verlängerung der Erholungslatenz¹³. Wäre nun die Verminderung der O_2 -Aufnahme bei laufender Temperaturerniedrigung an irgendeinem Punkt durch eine hypoxische Hypoxydose bedingt, dann müßte es zu einer Addition der Hypoxydosen kommen, d. h. die Beziehung zwischen Temperatur und Erholungslatenz

müßte gegenüber dem normal versorgten Kopf eine qualitative Änderung aufweisen. Dies war jedoch bei keiner Temperaturstufe der Fall: Wenn auch, wie gesagt, die Erholungslatenzwerte schon bei normaler Temperatur und so auch bei allen niedrigeren Temperaturen länger waren als bei normaler Blutdruckhöhe, so fand sich doch dieselbe Form der EL-Temperaturkurve mit demselben Minimum bei 29—30°. Die erniedrigte O₂-Aufnahme bei erniedrigter Temperatur kann also nicht Folge eines zu geringen O₂-Angebots sein; eine hypoxische Hypoxydose ist bei normaler Durchblutungsgröße in keiner Temperaturstufe nachzuweisen.

4. *Die Durchblutung.* Von vier Versuchen liegen die Durchblutungsgrößen zwischen 36—22° vor. Die Durchblutung stieg mit sinkender Temperatur an. Die Abb. 8 zeigt diese Zunahme in % dargestellt. Während der Durchfluß gegenüber der Norm (36° = 100%) bis 31° nur um 7,5% steigt, wurde bei 22° eine Zunahme um 42% erreicht. Mit anderen Worten, während von 36—31° der Durchfluß um 0,36 cm³/° C zunahm, stieg er von 26—22° um 0,95 cm³/° C. (W₂-Effekt?)

In entgegengesetzter Weise verhielt sich die reaktive Hyperämie nach den Ischämien. Die Abnahme der Mehrdurchblutung in der 1.—3. min nach der Ischämie erfolgt vorzugsweise zwischen 39 und 30°. Die Korrelation zwischen der reaktiven Hyperämie und der Temperatur ist eine straffe ($r = 0,747$, $p < 0,001$).

Besprechung der Ergebnisse.

Die Methode des isolierten Katzenkopfes mit einer Carotisanastomose erlaubt uns, die Vulnerabilität des Hirns bei verschiedenen Temperaturen nach perakuter kompletter Ischämie zu prüfen, bei gleichzeitiger Ausschaltung der hierbei störenden Effekte der Temperaturregulation und des frühzeitigen Kreislaufversagens. Damit sei besonders hervorgehoben, daß sich die beschriebenen Versuche nicht ohne weiteres auf einen Gesamtorganismus übertragen lassen.

1. *Die Überlebenszeit.* In Übereinstimmung mit zahlreichen anderen Autoren fanden auch wir eine Verlängerung der Überlebenszeit bei tiefen Temperaturen. Sie stieg von 18 sec bei 37° auf 37 sec bei 27°, was einer Verlängerung auf 206% der Norm entspricht. BRITTON und KLINE erzielten eine Verlängerung bei Hypoxie um 50% für 10° Temperatursenkung, MILLER — allerdings bei neugeborenen Meerschweinchen — eine solche auf das dreifache der Norm. Zwischen der Körpertemperatur und der Schnappatmungsdauer von Mäusen wird eine lineare Beziehung beschrieben (HIESTAND und andere). Bei unseren Versuchen ergab sich jedoch eine Kurve, die einer Exponential-Funktion ähnlich ist. Es ist danach wahrscheinlich, daß außer dem unmittelbaren Temperatureffekt noch ein weiterer begünstigender Faktor hinzugetreten ist. Wir möchten annehmen,

daß dieser im Anstieg der Hirndurchblutung mit sinkender Temperatur zu suchen ist.

In einer späteren Mitteilung über den Einfluß einer Restdurchströmung auf die Wiederbelebungszeit werden wir darlegen können, daß der Ausgangsdurchfluß von großer Bedeutung für die Überlebenszeit ist. Mit einer vermehrten Durchblutung zwischen den Ischämien geht auch ein erhöhter Blutgehalt während der Abklemmung einher. Damit wird zweierlei erreicht: 1. Die Glucosevorräte sind größer geworden und 2. der Ausfluß hat zugenommen. Zwar werden in den ersten 30 sec einer Ischämie 80% des Blutes, das sich aus dem Gefäß-System des Kopfes entleert, durch Arterienkonstriktion ausgetrieben, jedoch besteht auch in den letzten 10 sec einer 1 minütigen Ischämie noch ein Ausfluß von einigen Tropfen. Bei tieferer Temperatur mit vermehrtem praeischämischen Durchfluß wird der Blutgehalt des Hirns im Augenblick der Abklemmung größer sein und damit mehr Blut während der Ischämie infolge der Arterienkonstriktion noch durch das Hirn getrieben werden können als bei höheren Temperaturen.

Eine Stütze für diese Auffassung bietet auch das Ergebnis eines Versuchs, bei dem im Gegensatz zu den anderen mit abnehmender Temperatur die Durchblutung nicht anstieg, sondern absank. Wahrscheinlich trat infolge zu rascher Abkühlung des Blutes eine zunehmende Vasokonstriktion ein (SMITH). Hier fehlte der Effekt der Temperatursenkung auf die Überlebenszeit. Diese schwankte zwischen 37 und 24° C nur gering um einen Mittelwert von rund 20 sec. Der steigende Effekt einer Temperatursenkung auf die Überlebenszeit ist hier durch die erniedrigte Durchblutung zwischen den Ischämien gerade eben aufgehoben worden.

2. *Die Erholungslatenz.* Das wichtigste Resultat unserer Untersuchungen scheint uns der parabelförmige Kurvenverlauf der *Erholungslatenz* bei abnehmender Temperatur zu sein, also der Nachweis eines Minimums der EL bei einer Temperatur um 30°, oberhalb und unterhalb dessen ein exponentieller Anstieg nachzuweisen ist. In diesem Verlauf finden offenbar zwei gegensätzliche Einflüsse auf die EL ihren Ausdruck: Auf der einen Seite wird bei abnehmendem Bedarf nach der RGT-Regel durch Temperaturerniedrigung die EL entsprechend verkürzt; auf der anderen Seite führt die Temperaturerniedrigung zu einer Verlangsamung der Erholungsvorgänge. Die Resultierende ergibt sich aus der Interferenz der gegenläufigen Einflüsse. Diese Verlangsamung der Erholungsvorgänge macht sich erst bei niedrigeren Temperaturen bemerkbar: So fanden GROSSE-BROCKHOFF und SCHOEDEL bei Versuchen in tiefer Narkose erst unterhalb 33,5° eine Erregbarkeitsabnahme des Atemzentrums. In unseren Versuchen fand sich eine Abnahme der Frequenz der elektrischen Spontanschwankungen unterhalb 31—32°, der Amplitude unterhalb 32 bis 33°, eine Reduktion, die mit weiter sinkender Temperatur immer ausgesprochener wurde (Näheres siehe 14).

Für die Deutung der Ergebnisse scheint uns der folgende Befund von besonderer Bedeutung zu sein: Bei Wiedererhöhung der Temperatur entspricht das Frequenzspektrum zunächst nicht dem zuvor bei gleicher Temperatur festgestellten, sondern bleibt demgegenüber erniedrigt, und zwar umso deutlicher, je niedriger die Temperatur gewesen war.

Einen vergleichbaren Befund haben CHATFIELD und Mitarbeiter erhoben; die elektrischen Spontanschwankungen vom Goldhamster verschwanden bei 17°, kehrten aber erst bei Rückkehr auf eine Temperatur von 19—21° wieder. Ein analoges Verhalten hinsichtlich einer Verzögerung oder Verspätung von Erholungsvorgängen ist auch schon von anderen Autoren beobachtet worden, und zwar bei EKG-Veränderungen von GROSSE-BROCKHOFF und SCHOEDEL und bei Repolarisationsvorgängen an der Purkinjefaser von TRAUTWEIN et. al.

Die Erniedrigung der Temperatur erschwert also in spezifischer Weise gerade die *Erholung* von Funktionen. Bestimmte Funktionen, die bei einer gegebenen Temperaturhöhe noch aufrechterhalten wurden, können bei gleicher Temperatur nicht wieder neu aufgenommen werden, wenn sie zuvor zum Verschwinden gebracht wurden. So vermag man zu deuten, warum die sonst so strenge Korrelation zwischen Überlebenszeit und Erholungslatenz bei Temperaturen unter 30—32° durchbrochen wird. Bei höheren Temperaturen kann sich der verkürzende Einfluß einer Temperatursenkung auf die Erholungslatenz allein auswirken, bei niedrigeren Temperaturen kommt dagegen mehr und mehr der verlängernde Einfluß einer Erschwerung der Erholungsvorgänge zum Ausdruck. So resultiert die parabelförmige Abhängigkeit der Erholungslatenz von der Temperatur.

3. *Ursache von Kältewirkungen und Kältetod.* Die obige Ableitung und ihre Begründung im einzelnen läßt es von vornherein unwahrscheinlich erscheinen, daß eine Temperaturerniedrigung zu einer *hypoxischen Hypoxydose* führt, obwohl nur die aerobe Erholungslatenz unterhalb eines Minimums wieder ansteigt und die anaerobe Überlebenszeit weiter verlängert wird.

Im Hinblick auf die Auffassung von v. WERZ und LUTZ, daß der Kältetod eine Anoxiefolge sei, und im Hinblick auf die Verwirrung, die die falsche Deutung der schönen Experimente von LUTZ hervorgerufen hat, soll trotzdem noch ausführlicher auf diesen Punkt eingegangen werden. Diese Autoren stützen ihre Ansicht auf die Tatsache, daß bei abnehmender Temperatur die O₂-Dissoziationskurve des Blutes nach li. verschoben wird, d. h. daß bei gegebenem O₂-Gehalt der O₂-Druck niedriger und damit die O₂-Abgabe im Gewebe erschwert wird (BERT, HÜFNER, BARCROFT). Wir werden im folgenden kurz von einem BARCROFT-Effekt sprechen. Die Autoren berücksichtigen aber nicht, daß in dem Bereich, wo ein Warmblüter eine Temperaturerniedrigung überlebt, an keiner Stelle der O₂-Druck des arteriellen Blutes stärker absinkt als der O₂-Bedarf des Gewebes. Die Berechnungen des O₂-Drucks im Gewebe durch v. WERZ sind irreführend, da er hierbei die Werte von Haemoglobinlösungen zugrundelegte; die O₂-Bindungskurve des Blutes zeigt jedoch für unsere Fragestellung entscheidende Abweichungen von der der reinen Haemoglobinlösung. LUTZ und v. WERZ berücksichtigen weiter nicht, daß fast jeder Tod letzten Endes in einer hypoxischen Hypoxydose erfolgt, was aber nicht zu einer Verwechslung mit der *Todesursache* verführen darf. Die hypoxische Hypoxydose ist nur letzte gemeinsame Endstrecke zahlreicher Todesursachen; sie ist aber Folge und nicht Ursache.

Wenn LUTZ in schönen Experimenten zeigt, daß durch Beatmung der Tiere unter hohen Sauerstoffdrücken Überlebenszeit und Wiederbelebenszeit des Organismus nach dem Atemstillstand unterhalb 19—20° verlängert wird, so ist das kein Beweis für eine Aufhebung eines vorher wirksam gewesenenen BARCROFT-Effektes,

keine „Verkaldblüterung“ des Warmblüters, wie er sich ausdrückt, sondern es ist die Folge des erhöhten O_2 -Vorrats im Organismus. Denselben Effekt kann man auf diese Weise erreichen bei Versuchen mit Abklemmung der Trachea oder der Aorta, ohne daß hier ein BARCROFT-Effekt eine Rolle spielte. Wenn er hätte zeigen können, daß unter hohen Sauerstoffdrücken das Versagen der Atmung erst bei niedrigeren Temperaturen eintritt, dann wäre seine Beweisführung schlüssig gewesen, aber gerade das ist nicht der Fall. Die Versuche von LUTZ sind gerade ein Beweis dafür, daß durch Erhöhung des O_2 -Drucks im Blut eine „Verkaldblüterung“ des Warmblüters nicht gelingt, genau so wie der schlafähnliche Zustand des Menschen bei niedriger Temperatur noch lange kein Winterschlaf ist. Wenn LUTZ behauptet, daß die Frierreaktion deshalb bei rund 30° aufhöre, weil die Temperaturregulation durch Anoxie der Zentren versage, dann steht diese Behauptung im Widerspruch zu den experimentell festgestellten Tatsachen. Der Sauerstoffdruck im venösen Gehirnblut, damit auch an entscheidender Stelle im Gewebe, sinkt in dem überlebten Temperaturbereich nicht stärker ab als der O_2 -Verbrauch. DILL und FORBES haben gezeigt, daß der O_2 -Druck des Blutes bei 20° und einer O_2 -Sättigung von 70% noch 17 mm Hg beträgt, bei einer solchen von 90% noch 30 mm Hg. Wir fanden in keinem Fall ein Absinken des O_2 -Drucks im venösen Gehirnblut unter denjenigen Wert, der bei normalem Verbrauch als kritische Grenze bezeichnet werden kann, nämlich von 19 mm Hg³⁰. Da jedoch unsere Werte noch stark streuten, werden wir auf diese wichtige Frage erst später ausführlich eingehen, wenn die im Ausbau befindliche neue Methode eine genauere Bestimmung ermöglicht.

Wir sehen hier in unserer Darstellung ab von jenen Fällen, wo sich bei Temperaturniedrigung ein Lungenoedem entwickelt, das schon WALTHER in seiner klassischen Arbeit aufgefallen ist.

v. WERZ legt das Hauptgewicht auf die Phase der Frierreaktion zwischen 37 und 31° und glaubt, daß die dadurch bedingte Steigerung des O_2 -Bedarfs bei gleichzeitiger Verminderung der Herzfrequenz durch die Temperaturniedrigung zu tödlicher Anoxie führe. Gewiß bedeutet die Frierreaktion ebenso wie irgend eine Muskelarbeit eine schwere Belastung für den Organismus und besonders für das Herz, die man etwa bei künstlicher Hypothermie unter der Operation dem Menschen nicht zumuten kann, aber sie ist nicht Ursache des Kältetodes. Eine arterielle Hypoxie tritt dabei in nur geringem Maße ein¹⁹, eine venöse Hypoxie des Gehirns ist nicht zu erwarten, da der O_2 -Verbrauch des Gehirns nicht erhöht, sondern abgesunken ist. Eine hypoxische Herzschiädigung kann unter pathologischen Bedingungen eintreten, nicht am gesunden Organismus.

Wir haben weiter oben gezeigt, daß bei akuter Hypoxie das Minimum der Erholungslatenz bei Temperatursenkung im gleichen Bereich bleibt. Läge schon durch die Temperatursenkung als solche eine Hypoxie vor, dann hätte es nach höheren Temperaturen verschoben sein müssen. Mit Absicht wurde in diesen Versuchen die künstliche Hypoxie so schwer gewählt, daß sie an der kritischen Grenze lag; auch bei schwerster Frierreaktion des Gesamtorganismus kann eine solche Hypoxie nie beobachtet werden.

Wir müssen also gegenüber LUTZ und v. WERZ festhalten: Die *primäre Ursache* des Kältetodes ist nicht eine Anoxie. Diese ist erst sekundär bedingt durch das Versagen von Atmung und Kreislauf.

Dagegen ist es sogar wahrscheinlich, daß, mindestens von einer bestimmten Temperaturhöhe ab, eine *histotoxische Hypoxydose* eintritt und schließlich die Möglichkeit einer weiteren Temperatursenkung begrenzt. Da die Erhaltung von Struktur und Leistungsbereitschaft einer Zelle an

eine Folge von chemischen und physikalischen Prozessen gebunden ist, die verschiedene Temperaturabhängigkeiten zeigen, kann von einer bestimmten Temperaturhöhe ab einer dieser Prozesse zunehmend zum limitierenden Faktor werden.

Hier wären vielleicht die Ergebnisse O'CONNORS zu berücksichtigen, wonach bei Temperaturerniedrigung sprungweise Änderungen im Aggregatzustand eines Schichtfilms eintreten können, der die Moleküle eines in die Oxydationen eingeschalteten Ferments bedeckt. Allgemein ist zu erwarten, daß bei Temperatursenkung die Lipide und die Eiweiße in verschiedener Weise beeinflusst werden, so daß eine Struktur- und damit auch Funktionsänderung der Zelle resultiert.

Es ist weiter daran zu denken, daß die Diffusion von Na^+ in die Zellen und von K^+ aus den Zellen entsprechend ihrem Konzentrationsgefälle weniger durch eine Temperaturerniedrigung verändert wird als die Arbeitsgeschwindigkeit der „Natriumpumpe“, die fortgesetzt unter Energieaufwand das Na^+ entgegen dem Konzentrationsgefälle wieder aus der Zelle zu schaffen hat. Hier drängt sich die Parallele auf zu den Verhältnissen bei Erythrocyten in erniedrigter Temperatur, wo sich ebenfalls die Na^+ - und K^+ -Konzentrationen dem Plasma mehr und mehr annähern, da die Glykolyse so verlangsamt ist, daß die Heraus-schaffung des Na^+ unzureichend wird. In der Tat verhält sich ein isolierter Nerv bei niedriger Temperatur sehr ähnlich wie ein depolarisierter. LORENTE DE NÒ hat ausführlich diskutiert, warum trotzdem das Membranpotential bei sinkender Temperatur fast völlig unverändert gefunden wird, obschon eine Fraktion davon (seine L-Fraktion) schließlich ganz verschwindet; deshalb sei hierauf nicht weiter eingegangen.

Für die Annahme einer histotoxischen Hypoxydase, wonach bei Temperaturerniedrigung zwar der O_2 zur Verfügung steht, aber nicht in ausreichendem Maße aufgenommen werden kann, würde auch der Befund sprechen, daß die O_2 -Aufnahme des Gehirns unterhalb 30° stärker absinkt als der RGT-Regel entspricht. Es ist aber zu berücksichtigen, daß diese stärkere Senkung der O_2 -Aufnahme auch durch eine verstärkte Einschränkung der Tätigkeit und damit des Bedarfs unterhalb einer bestimmten Temperatur ausgelöst sein könnte. Auch die stärkere Durchblutungszunahme bei tieferen Temperaturen könnte für das Vorliegen einer Hypoxydase sprechen, ebenso der Befund, daß unterhalb 30° die reaktive Hyperaemie nach Ischämie nicht mehr weiter vermindert wird. Auf der anderen Seite darf die fortgesetzt zunehmende Verlängerung der Überlebenszeit bei weiter sinkender Temperatur nicht ohne weiteres als Gegenargument gegen das Vorhandensein einer histotoxischen Hypoxydase gewertet werden. Die Kurve der Überlebenszeiten in Abb. 4 könnte an sich, allein durch den Einfluß der Bedarfssenkung und der erhöhten Durchblutung zwischen den Ischämien, auch steiler verlaufen und durch eine zunehmende histotoxische Hypoxydase abgeflacht sein.

Wenn sich auch bei dieser Sachlage eine Entscheidung für oder gegen das Vorliegen einer histotoxischen Hypoxydase unterhalb 30° nicht fällen läßt, so möchten wir doch als Arbeitshypothese für weitere Versuche die folgende Deutung unserer Befunde vorschlagen:

In den ersten Stadien der Temperatursenkung genügt die Energieentbindung dem verminderten Bedarf; die Bedarfssenkung führt zu einer Verkürzung der Erholungslatenz nach Ischämie, d. h. zu einer Verlängerung der Wiederbelebungszeit des Gehirns. Zur Abgrenzung dieses Zustands von den Hypoxydosen hat SCHNEIDER die Bezeichnung *Hypochreose* (von *to chreos*, der Bedarf) vorgeschlagen. Bei weiterer

Temperatursenkung wird jedoch (z. B. durch Fermenthemmung) die Energieentbindung trotz genügenden Nährstoff- und Sauerstoffangebots so niedrig, daß die Leistungsbereitschaft der Zelle zu gering wird, es liegt dann eine histotoxische Form der Hypoxydose vor und die Erholungslatenz nach Ischämie wird verlängert, d. h. die Wiederbelebungszeit verkürzt, bis bei einer bestimmten Temperaturhöhe auch ohne zusätzliche Belastung der Tod eintritt.

Der Kältetod des höher organisierten Lebewesens wäre danach primär bedingt durch die Einschränkung der Tätigkeit der Zentren entsprechend der niedrigeren Temperatur, auch bei genügendem Energieangebot; durch den so ausgelösten Zusammenbruch von Kreislauf und Atmung kommt es *sekundär* zur hypoxischen Hypoxydose. Das isolierte künstlich durchströmte Katzengehirn ist zwar nach Temperatursenkungen noch wiederbelebbar, die der gesamte Katzenorganismus nicht übersteht, aber die Wiederaufnahme der Gehirntätigkeit ist abhängig von der Zeitdauer, in der diese aufgehoben war. Je tiefer unter 30° die Temperatur, desto kürzer ist diese Zeit. Die Erniedrigung der Temperatur erbringt zwar den Vorteil des gesenkten Bedarfs, aber auch den Nachteil einer Verlangsamung der Erholungsvorgänge nach Ausschaltung von Funktionen, so daß sich das geschilderte Minimum der Erholungslatenz für die Katze bei rund 30° ergibt.

4. *Folgerungen für eine künstliche Temperatursenkung beim Menschen.* Von Interesse erscheinen unsere Ergebnisse schließlich im Hinblick auf die moderne Methode der gesteuerten Hypothermie am Menschen (sogenannter „*künstlicher Winterschlaf*“) nach LABORIT. Sie zeigen einmal, wie bedeutungsvoll in einschlägigen Fällen die Verhinderung von Fieber sein kann, da oberhalb der normalen Körpertemperatur die „Vulnerabilität“ des Gehirns sehr steil ansteigt. Sie zeigen weiter, daß unterhalb 34° durch weitere Temperatursenkung in Bezug auf die Vulnerabilität des Gehirns nicht mehr viel gewonnen werden kann und daß unterhalb 30° sich sogar wieder ein Verlust einstellt. Schließlich weist der Unterschied im EEG-Bild bei gleicher Temperatur vor und nach einer weiteren Temperaturerniedrigung, d. h. die zunehmende Verlangsamung der Erholungsvorgänge bei erniedrigter Temperatur, darauf hin, daß der „Weg zurück“ umso schwieriger werden muß, je mehr die Temperatur gesenkt wurde. Das Hauptproblem bei der künstlichen Hypothermie wird deshalb weniger in der Senkung und der Beibehaltung einer erniedrigten Temperatur liegen als in der Wiedererwärmung.

Schließlich sei noch auf einen weiteren Punkt aufmerksam gemacht: Jede Verlängerung der Überlebenszeit müßte automatisch eine Verkürzung der Erholungslatenz herbeiführen, da dann bei einer gegebenen Abklemmdauer die Zeitdauer völliger Anaerobiose und die Erschöpfung der Energievorräte geringer ist. Diese strenge Korrelation fand sich aber

nur bis zu einer Temperatur von 32° , dann verkürzte sich die Erholungslatenz weniger als es der Verlängerung der Überlebenszeit entsprach. Das Temperaturminimum für die Erholungslatenz bei 30° stellt also nicht das Temperaturoptimum der Erholungslatenz dar, sondern dieses liegt höher. Der Optimalbereich für die Erholungslatenz bei rund $32\text{--}33^{\circ}$ entspricht auch dem Bereich, wo sich die Abnahme der Erregbarkeit und der Amplitude und Frequenz im EEG zu manifestieren beginnt. Es ist denkbar, daß dieser Bereich für kompliziertere Funktionen noch höher liegt.

Wir haben schon betont, daß unsere Ergebnisse nicht ohne weiteres auf den Gesamtorganismus übertragen werden dürfen. Dort ergibt nämlich eine Abkühlung unter 31° den Vorteil, daß durch Ausfall der „Frierreaktion“ die Belastung von Kreislauf und Atmung geringer wird, so daß bei diesen Temperaturen der Verbrauch an Narkotica und andern Medikamenten zur Hemmung der Temperaturregulation mit ihren toxischen Nebenwirkungen auf das ZNS herabgemindert wird. Es wird aber in jedem Einzelfalle eine genaue Bilanz aufgestellt, Vorteil und Nachteil gegeneinander abgewogen und berücksichtigt werden müssen, daß das Optimum für die Wiedererholung des Gehirns bei Temperaturen unter rund 33° unterschritten wird. Temperatursenkungen unter diese Höhe sollten nur dann erwogen werden, wenn sich dadurch in anderer Hinsicht wesentliche Vorteile ergeben. Hierbei kann in Rechnung gestellt werden, daß das Minimum der Erholungslatenz (d. h. das Maximum der Wiederbelebenszeit) sehr flach verläuft und erst unterhalb 29° wieder ein steiler Anstieg beginnt.

Zusammenfassung.

1. An 11 isolierten Katzenköpfen mit einer Carotis-Anastomose wurde bei Temperaturen zwischen $22\text{--}38^{\circ}$ das Verhalten der Überlebenszeit und der Erholungslatenz bei perakuter kompletter Ischämie geprüft sowie der O_2 -Verbrauch und die Durchblutung gemessen.

2. Der O_2 -Verbrauch fiel zwischen 37 und 20° linear ab; bei logarithmischer Darstellung läßt sich ein Bruch in der Kurve bei etwa 28° nachweisen. Die Angabe eines Q_{10} ist deshalb irreführend.

3. Die Durchblutung nahm mit sinkender Temperatur zu, besonders unterhalb 30° . Die reaktive Hyperämie nach Beendigung der Ischämie zeigte dagegen eine Abnahme bis zu einer Temperatur von 30° .

4. Die Überlebenszeit wurde mit sinkender Temperatur exponentiell verlängert. Dabei trat unterhalb 30° neben der Verbrauchssenkung auch eine Durchblutungszunahme als begünstigender Faktor in Erscheinung.

5. Die Erholungslatenz nimmt mit Erniedrigung der Temperatur exponentiell ab, um bei 30° ein Minimum zu durchlaufen und anschließend wieder exponentiell anzusteigen. Die Wiederbelebenszeit weist also bei

30° ein Maximum auf. Das Erholungslatenzminimum entspricht jedoch nicht einem Erholungsoptimum; es wird abgeleitet, daß dieses um mehrere Grade höher liegt.

6. Dieses Verhalten der Erholungslatenz und die Abnahme der Frequenz und Amplitude der elektrischen Spontanschwankungen unterhalb 32—33° wird durch folgende Arbeitshypothese gedeutet: In den ersten Stufen unterhalb der Normaltemperatur verkürzt sich die Erholungslatenz durch Verminderung des Bedarfs. Bei niedrigeren Temperaturen vermindert sich die Leistungsbereitschaft und die Erholungsfähigkeit (z. B. durch Fermenthemmung), so daß die Erholungslatenz ansteigt. Hier entspricht die Energieentbindung nicht mehr dem Bedarf zur Aufrechterhaltung der Leistungsbereitschaft; es liegt wahrscheinlich eine histotoxische Form der Hypoxydose vor.

7. Für das Vorliegen einer hypoxischen Hypoxydose finden sich keine Anhaltspunkte. Der Kältetod ist nicht primär ein Anoxietod. Durch das Versagen von Kreislauf und Atmung tritt erst zuletzt und sekundär eine hypoxische Hypoxydose ein.

Literatur.

- ¹ BARCROFT, J.: Die Atmungsfunktion d. Blutes. 2. Bd. Berlin: Springer 1927.
- ² BERT, P.: La pression barométrique S. 689ff Paris 1878. — ³ BOEHM, R., u. F. A. HOFFMANN: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **8**, 375 (1878). — ⁴ BRITTON, S. W., u. R. F. KLINE: Amer. J. Physiol. **145**, 190 (1945). — ⁵ CROZIER, W. J.: J. Gen. Physiol. **7**, 123 (1925). — ⁶ DILL, D. B., u. W. H. FORBES: Amer. J. Physiol. **132**, 685 (1941). — ⁷ FIELD, J. 2d u. F. A. FUHRMANN: J. of Neurophysiol. **7**, 117 (1944).
- ⁸ FISHER, R. A., u. F. YATES: Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 3. Aufl., London u. Edinburg, 1949. — ⁹ FODEN, R. H., F. W. STEMMER, W. T. ROCKHOLD u. W. A. HIESTAND: Federat. Proc. **11**, 46 (1952). — ¹⁰ FUHRMANN, F. A., u. J. FIELD 2d: Amer. J. Physiol. **139**, 193 (1943). — ¹¹ GÄNSHIRT, H., u. W. ZYLKA: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **189**, 23 (1952). — ¹² GÄNSHIRT, H., L. DRANSFELD u. W. ZYLKA: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **189**, 109 (1952). — ¹³ GÄNSHIRT, H., u. W. ZYLKA: Pflügers Arch. **256**, 181 (1952). — ¹⁴ GÄNSHIRT, H., G. SEVERIN u. W. ZYLKA: Pflügers Arch. **256**, 219 (1952). — ¹⁵ GÄNSHIRT, H., H. HIRSCH, W. KRENKEL u. W. ZYLKA: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. erscheint demnächst. — ¹⁶ GÄNSHIRT, H., H. HIRSCH, D. KOCH, W. KRENKEL, M. SCHNEIDER, F. SCHNELLBÄCHER u. W. ZYLKA: Pflügers Arch. erscheint demnächst. — ¹⁷ GELLHORN, E.: Amer. J. Physiol. **120**, 190 (1937). — ¹⁸ GOLLAN, F.: Federat. Proc. **11**, 56 (1952). — ¹⁹ GROSSE-BROCKHOFF, F., u. W. SCHOEDEL: Pflügers Arch. **246**, 664 (1943). — Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **201**, 417 (1943). — ²⁰ HAMILTON, J. B.: J. Biol. a. Med. **9**, 327 (1937). — ²¹ HEGNAUER, A. H., H. D'AMATO u. J. FLYNN: Amer. J. Physiol. **167**, 63 (1951). — ²² HEGNAUER, A. H., J. FLYNN u. H. D'AMATO: Amer. J. Physiol. **167**, 69 (1951). — ²³ HEYMANS, C., u. A. LADON: Arch. internat. Pharmacodynamie **30**, 415 (1925). — ²⁴ HEYMANS, C.: Physiologic. Rev. **30**, 375 (1950). — ²⁵ HÜFNER, B.: Arch. f. Anat. **14**, 1 (1890). — Hoppe-Seylers Z. **12**, 568 (1888); **13**, 285 (1889). — ²⁶ LABORIT, H.: Acta anaesth. belg. **2**, 710 (1951). — Anaesth. **1**, 19 (1952). — ²⁷ LEWIS, TH., u. W. S. LOVE: Heart **13**, 27 (1926). — ^{27a} LORENTE DE Nò, R.: A study of nerve physiology. Studies from the Rockefeller Institute f. med. res. **131**, **132** (1947). — ²⁸ LUTZ, W.: Klin. Wschr. **1943**,

727. — ²⁹ MILLER, J. A.: *Science* **110**, 113 (1949). — ³⁰ NOELL, W., u. M. SCHNEIDER: *Pflügers Arch.* **247**, 514 (1944). — ³¹ O'CONNOR: zit. nach TRURNIT, H. J.: *Chem. organ. Naturstoffe* **4**, 347 (1945). — ³² OPITZ, E., u. M. SCHNEIDER: *Erg. Physiol.* **46**, 126 (1950). — ³³ PHILLIPS, N. E., P. A. SAXON u. F. H. QUIMBY: *Amer. J. Physiol.* **161**, 307 (1950). — ³⁴ PLANCK, R.: *Pflügers Arch.* **239**, 74 (1938). — ³⁵ REISS, M., u. F. HAUROWITZ: *Klin. Wschr.* **1929**, 743. — ³⁶ SAATHOFF, J., u. E. OPITZ: *Pflügers Arch.* **255**, 492 (1952). — ³⁷ SCHNEIDER, M.: *Verh. dtsh. Ges. Kreislauforsch.* **19**, 3 (1953). — ³⁸ SMITH, D. J.: *Federat. Proc.* **11**, 288 (1952). — ³⁹ TRAUTWEIN, W., N. GOTTSTEIN u. K. FEDERSCHMITT: *Pflügers Arch.* **258**, 243 (1953). — ⁴⁰ VELTEN, M.: *Pflügers Arch.* **21** (1880). — ⁴¹ WALTHER, A.: *Virchows Arch.* **25**, 414 (1862). — ⁴² WEINBERGER, L. H., M. H. GIBBON u. J. H. GIBBON: *Arch. of Neur.* **43**, 615 (1940). — ⁴³ v. WERZ, R.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **202**, 561 (1943). — ⁴⁴ WINTERNITZ, R.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **33**, 286 (1894). — ⁴⁵ WOLFF, R. C., u. K. E. PENROD: *Amer. J. Physiol.* **163**, 580 (1950). — ⁴⁶ ZIEGLER: *Lehrbuch der pathol. Anatomie*. Jena 1889.

Prof. Dr. M. SCHNEIDER, Köln, Zülpicherstr. 47. Physiol. Inst. d. Univ.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Systemen*.

I. Messung der Wasserbindung in nicht homogenen Systemen mit Hilfe der thermischen Analyse.

Von

J. PICHOTKA, W. HÖFLER und I. REISSNER.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Februar 1954.)

Einleitung.

Die osmotische Konzentration wäßriger Lösungen wird üblicherweise mit Hilfe der Gefrierpunktmessung bestimmt. Die Beziehung, daß eine Gefrierpunktserniedrigung von $1,85^\circ$ einem osmotischen Druck von 22,4 atm entspricht, gilt in dem Konzentrationsbereich, der in der Biologie interessiert, praktisch uneingeschränkt.

In der biologischen Literatur wird allgemein die Ansicht vertreten, daß die osmotische Konzentration des Wassers innerhalb der höheren Organismen überall gleich sei^{8, 9, 15, 18}. Der bequem meßbare Wert der Gefrierpunktserniedrigung von Blut oder Serum wird als der Wert für die osmotische Wasserbindung im gesamten komplizierten wäßrigen System des Organismus angesehen.

Die Annahme der gleichen osmotischen Spannung innerhalb eines Organismus schien sich aus einer Reihe allgemeiner Beobachtungen zu ergeben. Es läßt sich unter den verschiedensten Umständen feststellen, daß die Zellen im dauernden Wasseraustausch mit ihrer Umgebung stehen. Erhöhung oder Verminderung der osmotischen Konzentration in der Umgebung der Zellen führt zu richtungsmäßig korrespondierenden Änderungen des Zellvolumens unter Wasserverschiebung. Verschiedene Aktivitätszustände der Zelle sind durch typische Änderungen des Zellvolumens ausgezeichnet. Man nahm an, daß diese Volumenänderungen bedingt seien durch Anhäufungen osmotisch wirksamer Substanzen in Abhängigkeit von den verschiedenen Aktivitätszuständen. Alle Beobachtungen über die Veränderlichkeit des Zellvolumens erschienen am leichtesten verständlich unter der Annahme, daß die Zellwand frei für Wasser durchgängig sei und daß das Zellinnere mit der Umgebung im einfachen osmotischen Gleichgewicht stehe^{8, 15}.

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Eine weitere Stütze für die Annahme eines osmotischen Gleichgewichts zwischen dem intra- und extracellulären Raum schienen die Beobachtungen mit den sogenannten physiologischen Salzlösungen darzustellen. Es ergab sich als das Resultat allgemeiner Erfahrung, daß neben einer bestimmten Ionenkomposition der osmotische Druck der Gesamtlösung die entscheidende Größe für die Brauchbarkeit solcher Lösungen ist. Die höchste Überlebensdauer von Geweben wurde allgemein bei einer osmotischen Spannung gefunden, die der im Blutplasma vorhandenen entspricht. Erhöhung oder Verminderung der Gesamtkonzentration auch bei Einhaltung der richtigen relativen Ionenkonzentration führte zur Minderung der Überlebensfähigkeit.

Die aufgeführten Beobachtungen sind keine zwingenden Gründe für die Annahme eines einfachen osmotischen Gleichgewichts zwischen intra- und extracellulärem Raum und zwischen verschiedenen Geweben. Sie stellen lediglich fest, daß ein bestimmter osmotischer Druck der Umgebung ebenso wie eine charakteristische Ionenzusammensetzung optimale Funktionsbedingungen für Zellen und Gewebe höherer Organismen darstellen.

Die experimentellen Untersuchungen, die zur Stützung der klassischen Theorie von der Isotonie innerhalb der Organismen herangezogen worden sind, sind auf 2 verschiedenen methodischen Wegen durchgeführt worden. Von der VAN SLYKE'schen Schule insbesondere ist die Konzentration und die Zusammensetzung der osmotisch wirksamen Fraktionen in den verschiedenen Körperflüssigkeiten und in den Geweben untersucht worden. Es wurde zum Teil eine mit der Annahme der Isotonie vereinbare Übereinstimmung der Konzentration osmotisch wirksamer Substanzen gefunden. In anderen Fällen fanden sich erhebliche Unterschiede. Man nahm an, daß der das Gleichgewicht überschießende Anteil im Gewebe in einer osmotisch unwirksamen Form vorliege^{3, 15}.

Die bei weitem zahlreichsten Untersuchungen zu dieser Frage wurden mit Hilfe der Messung des erniedrigten Gefrierpunkts oder des erniedrigten Dampfdrucks durchgeführt. Das entscheidende Ergebnis dieser Untersuchungen war der Nachweis der Uniformität der Wasserbindung und der Ionenkonzentration im Blutplasma weiter Kreise des Tierreiches. So schwankt die praktisch allein von der Ionenkonzentration abhängige Gefrierpunktserniedrigung im Blut aller Säugetiere im wesentlichen nur zwischen $-0,56^{\circ}$ und $-0,58^{\circ}$. In einer stark teleologisch gerichteten Biologie ist dieses Ergebnis ein gewichtiges Argument für die Isotonie halb des gesamten Organismus gewesen.

Tatsächlich ist aber mit diesen beiden Meßverfahren gar keine Aussage über das Bestehen oder Nichtbestehen einer Isotonie z. B. innerhalb eines Gewebes möglich, selbst nicht, wenn das Bestehen der Isotonie in Zweifel gezogen worden wäre. Um von der Messung der osmotisch wirksamen Substanzen in einem Gewebe auf die Wasserbindung schließen zu können, müssen eine Reihe von Prämissen eingeführt werden. Es muß angenommen werden, daß die gesamte Menge der gelösten Substanzen oder ein bestimmter Teil osmotisch aktiv ist und daß dieser *allein* für die Wasserbindung verantwortlich ist. Es muß weiterhin eine völlig freie

Beweglichkeit des Wassers zwischen den verschiedenen Räumen vorausgesetzt werden, so daß eine der Verteilung gelöster Substanzen entsprechende Verteilung des Wassers resultiert. Das heißt mit anderen Worten, um von der Menge osmotisch aktiver Substanz in einem Gewebe auf die Wasserbindung schließen zu können, muß die Isotonie zwischen den verschiedenen Räumen als Bedingung eingeführt werden.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Gefrierpunktsbestimmung. Die Gefrierpunktserniedrigung erlaubt nur dann einen Rückschluß auf die Wasserbindung, wenn das System in Bezug auf die Wasserbindung isotonisch ist. In einem System mit mehreren unabhängigen Phasen wird durch den Gefrierpunkt immer nur allein die Phase mit der geringsten Dampfdruckerniedrigung angezeigt. Außerdem ist nicht zu erkennen, welcher Anteil des Gesamtwassers durch den Gefrierpunkt repräsentiert wird.

Diese Verhältnisse lassen sich an einem einfachen Experiment darstellen. Kühlen wir einen Behälter mit einer Salzlösung bestimmter Konzentration ab, so wird bei Einhaltung der notwendigen Vorsichtsmaßregeln bei einer bestimmten Temperatur die Gefrierung einsetzen und als Ausdruck dessen der anfänglich beobachtete Temperaturabfall zum Stehen kommen. Nehmen wir nun den gleichen Behälter, setzen in ihn hinein einen zweiten Behälter mit einer konzentrierteren Salzlösung und kühlen nun dieses „System“ gemeinsam ab, so ändert sich an dem Experiment nichts. Der Temperaturabfall kommt am gleichen Punkt zum Stehen wie im ersten Experiment. Die in dem zweiten Behälter befindliche konzentriertere Lösung ist ohne Einfluß auf den in dieser Weise gemessenen Gefrierpunkt, unabhängig davon, wie das gesamte Wasser zwischen den beiden Konzentrationen verteilt ist (siehe Abb. 2). Dieses Ergebnis ist unmittelbar anwendbar auf eine zugunsten der Identität der osmotischen Spannung von extra- und intracellulärem Raum angeführte Messung, nämlich des gleichen Gefrierpunktes von Serum und Vollblut. Selbst wenn das gesamte in den Erythrocyten vorhandene Wasser eine viel höhere osmotische Spannung hätte als das Blutserum, so würde doch der Gefrierpunkt von Serum und Vollblut derselbe bleiben müssen, wenn nicht durch die Gefrierung die Trennung der beiden Phasen aufgehoben würde.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich, daß mit Hilfe der Gefrierpunktsbestimmung zu der Frage der Isotonie keine schlüssige Aussage möglich ist, da im Gefrierpunkt immer nur die Phase mit der geringsten Erniedrigung des Dampfdrucks zum Vorschein kommt. Die gleichen Einschränkungen wie für die Gefrierpunktsbestimmung gelten auch für die unmittelbare Dampfdruckmessung, die den HILLSchen Untersuchungen^{6, 7, 10, 11} zugrunde liegt.

Durch eine Reihe von unabhängigen Arbeiten der letzten Jahre ist die Isotonie innerhalb der Organismen zweifelhaft geworden.

Bei Untersuchungen im KREBSSchen Laboratorium über die Aufnahme von Glutaminsäure in Gewebsschnitten von Meerschweinchen wurde beobachtet, daß die Gewebsschnitten unter anaeroben Bedingungen auch in adäquaten isotonischen Medien anschwellen. Es wurden dabei Gewichtserhöhungen durch Wasseraufnahme bis zu 50% festgestellt²¹. OPIE stellte fest, daß isolierte Rattengewebe in

plasmaisotonen Lösungen erhebliche Mengen an Wasser aufnehmen. Um diese Wasseraufnahme zu verhindern, waren deutlich hypertone Lösungen notwendig, deren Konzentration von Gewebe zu Gewebe verschieden war. Leber und Nierengewebe verhielten sich so, als ob der osmotische Druck innerhalb des Gewebes etwa doppelt so hoch sei als im Plasma. In weiteren Untersuchungen konnte OPIE zeigen, daß die Fähigkeit der Gewebe, aus plasmaisotonen Lösungen Wasser aufzunehmen, durch bestimmte Vergiftungen beseitigt wurde^{12, 13, 14}. In Untersuchungen am lebenden Muskel beobachtete PICHOTKA, daß der Gefrierpunkt und Taupunkt des Muskelgewebes bei etwa -1.5° lag, und daß in vielen Fällen ein zweiter Gefrierpunkt beobachtet werden konnte, der bei etwa $-2,0^{\circ}$ lag¹⁶. Eine ausgedehnte Studie zu dieser Frage veröffentlichte ROBINSON¹⁹. Er zeigte an Gewebsschnitten von der Ratte, daß diese in isotonischen Medien Wasser aufnehmen, sobald ihr Stoffwechsel herabgesetzt wurde. Dabei war es gleichgültig, aus welcher Ursache der Stoffwechsel herabgesetzt wurde. Herabsetzung der O_2 -Spannung, Abkühlung, Änderung des pH oder Cyanidvergiftung hatten alle die gleiche Wirkung. Diese Wasseraufnahme war reversibel, wie sich am Beispiel der Cyanidvergiftung nachweisen ließ. Nach Auswaschen des Cyanids verminderte sich der Wassergehalt der Gewebsschnitte in gleicher Weise, wie sich die Sauerstoffaufnahme wiederherstellte.

Diese Beobachtungen sind mit der Annahme eines osmotischen Gleichgewichts innerhalb des Organismus nicht vereinbar. Es muß also mit dem Bestehen mehrerer unabhängiger oder relativ unabhängiger Phasen gerechnet werden. Eine quantitative Aussage über die Wasserbindungsverhältnisse in einem solchen System ist, — soweit bisher zu übersehen ist, — nur mit einem Verfahren möglich, das im Prinzip der thermischen Analyse entspricht. Es handelt sich dabei um die Registrierung des Temperaturverlaufs bei zeitlich definierter Änderung des Wärmeinhaltes. Die Geschwindigkeit der Temperaturänderung ist dann ein Maß für die Änderung des Energieinhaltes in den jeweiligen Temperaturintervallen. Bei der Abkühlung eines Metalles, das während dieses Vorganges keine Änderung erleidet, stellt sich der Temperaturverlauf in einfacher Weise dar. Mit einem konstanten Gradienten würde der Temperaturabfall linear erfolgen. Bei der gewöhnlich angewandten Messung des Temperaturverlaufs bei Abkühlung auf eine konstante Umgebungstemperatur würde die Temperatur entsprechend dem ständig abnehmenden Gradienten mir einer e-Funktion auf die Umgebungstemperatur abfallen. Jede Abweichung von diesem Verlauf würde bedeuten, daß zur Abkühlung ein anderer Prozeß hinzukommt.

Die unter gleichen Bedingungen durchgeführte Abkühlung einer wäßrigen Lösung zeigt einen komplizierten Temperaturverlauf. Mit dem Erreichen des Gefrierpunktes erfolgt ein scharfer Knick. Die an diesem Punkt einsetzende Kristallisation bedingt durch die damit verbundene Wärmebildung eine Verlangsamung des Temperaturabfalles, die der jeweils kristallisierenden Wassermenge proportional ist. Durch das Ausfrieren des Wassers kommt es zu einer zunehmenden Konzentration der verbleibenden Lösung und damit zu einer kontinuierlichen Erniedrigung des Gefrierpunktes. Die Temperatur bewegt sich im Idealfall auf einer

Hyperbel abwärts, da entsprechend dem VAN'T HOFF'schen Gesetz der Lösungen das Produkt aus Volumen und Konzentration der noch ungefrorenen Lösung konstant ist ($p \cdot v = \text{const.}$). Die bestimmenden Größen für die Hyperbel sind die Ausgangskonzentration und die Gesamtmenge der Lösung bzw. des Wassers (Abb. 1). Durch diese beiden Größen ist die Wassermenge bestimmt, die in jedem Temperaturintervall zur Kristallisation kommt. Die faktisch registrierten Kurven sind keine reinen Hyperbeln. Sie enthalten zumindest immer einen linearen Anteil, der aus

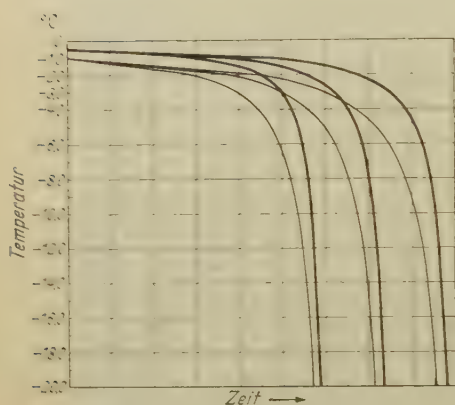


Abb. 1.

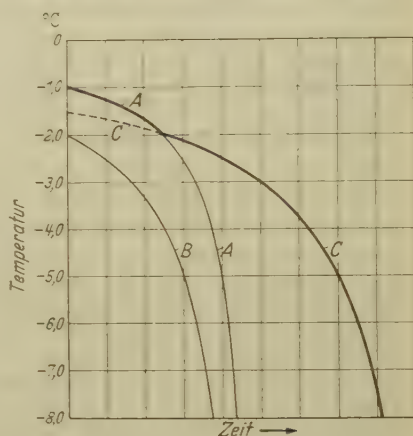


Abb. 2.

Abb. 1. Temperaturverlauf bei der Gefrierung mit konstantem Wärmeentzug und unter idealen Bedingungen. Die beiden Kurvenscharen entsprechen dem Verlauf bei der Gefrierung von je 3 Flüssigkeitsmengen mit gleichem Gefrierpunkt. Die Gefrierpunkte entsprechen einer 1% igen (starke Linien) und einer 2% igen (dünne Linien) Kochsalzlösungen. Die Wassermengen verhalten sich jeweils wie 4:5:6. In diesem Verlauf ist weder die Wärmekapazität des Wassers noch die Änderung der Kapazität beim Übergang zu Eis, noch eine zusätzliche Kapazität für einen Behälter berücksichtigt. Unter realen Bedingungen treten alle diese Größen mit ein.

Abb. 2. Temperaturverlauf bei der Gefrierung eines zusammengesetzten Systems unter idealen Bedingungen. Es sind 2 Phasen gleicher Wassermenge mit den Gefrierpunkten $-1,0^\circ$ und $-2,0^\circ$ angenommen. Die stark ausgezogene Linie stellt den tatsächlichen Temperaturverlauf während des Gefrierens dar. Die beiden dünn ausgezogenen Linien (A und B) stellen den Temperaturverlauf bei der getrennten Gefrierung der beiden Phasen dar. Die gestrichelte Linie entspricht der Extrapolation der durch Addition der beiden Phasen entstehenden Hyperbel (C) auf die Zeit 0. Dieser Verlauf würde beobachtet, wenn die beiden Phasen vor dem Gefrieren mischt würden. Die gestrichelte Linie (C) mit dem anschließenden stark ausgezogenen Hyperbelteil (C) ist also ein Maß für die gesamte osmotische Energie des Systems.

der Abkühlung des Behälters und eines Teiles der Umgebung herrührt. Davon wird aber der grundsätzlich hyperbolische Charakter des Temperaturverlaufs nicht betroffen.

Abweichungen von dem einfachen hyperbolischen Verlauf der Temperatur während der Abkühlung eines wässrigen Systems bei konstantem Wärmeentzug zeigen an, daß es sich in Bezug auf das Wasser nicht um ein einheitliches Bindungssystem handelt, sondern daß zumindest relativ getrennte Phasen vorliegen. Für das vorhin erwähnte Beispiel des gleich-

zeitigen Gefrierens zweier ineinandergestellter Behälter mit Lösungen verschiedener Konzentration würde sich unter entsprechenden Versuchsbedingungen ein Temperaturverlauf ergeben, wie er in Abb. 2 dargestellt ist. Mit dem Erreichen des Gefrierpunktes der geringer konzentrierten Lösung (A) würde eine scharfe Verlangsamung des Temperaturabfalles eintreten. Die Temperatur würde dann weiter verlaufen auf einer Hyperbel, die bestimmt ist durch die Konzentration und Menge dieser zuerst gefrierenden Lösung. Beim Erreichen des Gefrierpunktes der zweiten Lösung (B) würde erneut eine starke Verlangsamung des Temperaturabfalles einsetzen und danach wiederum ein hyperbolischer Abfall. Die resultierende Gesamtkurve (C) entspricht einer Addition der Einzelkurve für die beiden Lösungen über die Temperaturachse. Aus der Analyse der Gesamtkurve lassen sich mithin die Gefrierpunkte und die Wassermengen erfassen, die zu den einzelnen Phasen des Systems gehören.

Methodik.

Das Prinzip der Methode ist die Messung des Temperaturverlaufs bei definiertem Wärmeentzug.

Meßanordnung.

Die ganze Meßanordnung befand sich innerhalb eines großen DEWAR-Gefäßes mit 10 cm innerem Durchmesser und 30 cm Höhe. In dem großen DEWAR-Gefäß war ein unten geschlossener Kupferzylinder von 6 cm Durchmesser konzentrisch fixiert. Der freie Raum zwischen äußerem DEWAR-Gefäß und Kupferzylinder wurde mit feingestoßnem Trockeneis gefüllt. Die Anordnung war so getroffen, daß der Stand des Trockeneises jederzeit während der Messung kontrolliert und ergänzt werden konnte. In dem Kupferzylinder war zentriert eine kleinere DEWAR-Flasche von 15 cm Höhe und 3,5 cm innerem Durchmesser aufgehängt, die die eigentliche metallene Kammer zur Aufnahme des Untersuchungsgutes enthielt (Abb. 3).

Die Abkühlung erfolgte gegen die Temperatur des Trockeneises (-80°). Eine solch niedrige Ausgleichstemperatur wurde gewählt, um in dem Temperaturbereich, der uns am meisten interessierte — nämlich von 0° bis wenige Grad darunter — einen praktisch unveränderlichen Gradienten zu haben. Um trotz dieses hohen Gradienten die notwendige langsame Abkühlung zu erreichen, wurde zwischen Trockeneis und Gefrierkammer in Gestalt des zweiten DEWAR-Gefäßes ein hoher Widerstand für den Wärmeübergang gelegt (siehe Abb. 3).

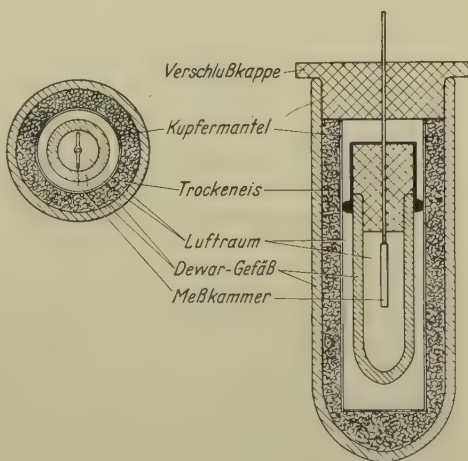


Abb. 3. Längsschnitt und Querschnitt durch die Meßanordnung. Siehe Text.

Der Wärmeübergang erfolgt bei diesem Verfahren praktisch ausschließlich durch Strahlung. Die Eigenschaften der Anordnung verbürgen eine hohe Konstanz des Wärmeüberganges. Die zeitliche Reproduzierbarkeit der Meßverläufe war entsprechend gut. Bei einer Meßdauer von durchschnittlich 90 min wurde an Standardlösungen die gleiche Temperatur innerhalb einer zeitlichen Streuung von $\pm 1,5\%$ erreicht.

Wenn der Beginn der Kristallisation bei der Abkühlung sich selbst überlassen bleibt, treten große und unregelmäßige Unterkühlungen auf. Die Kurvenverläufe nach verschieden starker Unterkühlung sind nicht vergleichbar. Offensichtlich ist der Wärmeübergang bei sonst gleichen Bedingungen verschieden, je nachdem ob bereits Kristallisation eingesetzt hat oder nicht. Es war daher notwendig, die Unterkühlung zu vermeiden. Die üblichen Impfverfahren waren für unsere Zwecke zu unhandlich und unzuverlässig und außerdem für feste Gewebe praktisch nicht anwendbar.

Wir mußten daher ein für unsere Zwecke geeignetes Impfverfahren entwickeln. Dazu wurden dünne vergoldete Stahldrähte mit scharf geschliffenen Spitzen und einem kleinen isolierenden Handgriff im Trockeneisbehälter abgekühlt. Auf dem Weg durch die Zimmerluft dampfen die geringen daran haftenden Kohlensäurereste schnell ab, und es bildet sich durch Niederschlag ein kaum sichtbarer Eisfilm auf dem Draht. Die Impfung des abgekühlten Gewebes durch Einstechen mit diesen Drähten ermöglicht eine völlige Kontrolle des Kristallisationsbeginns. Die genauen Angaben über das Impfverfahren finden sich in einer anderen Veröffentlichung¹⁷.

Es ist noch wesentlich darauf hinzuweisen, daß erhebliche Fehler in der Messung entstehen können, wenn die zur Abkühlung verwandte Kohlensäure mit dem gemessenen Substrat in Kontakt kommt und sich darin löst. In unseren Versuchen wurde daher die Meßkammer durch ein genau passendes Gegenstück aus Plexiglas verschlossen. Das innere DEWAR-Gefäß, in dem sich die Meßkammer befand, wurde durch einen 2teiligen Deckel verschlossen, der mit Hilfe einer fest ansitzenden Gummikappe in seiner Lage gehalten wurde. Lediglich die in Igelitschläuchen geführten Meßleitungen wurden durch diese Kappe hindurchgeführt.

Die Thermoelemente wurden aus Kupfer- und Konstantandraht von je 0,45 mm Durchmesser hergestellt. Die zum Meßelement gehörigen Leitungen wurden von der Lötstelle an auf eine Strecke von 20 cm durch eine Quarzcapillare geführt. Die Lötstelle wurde am freien Ende der Capillare mit Aralit eingeschmolzen. Die Quarzisolierung erwies sich als notwendig, da die üblichen Isolierungsmittel sich zu geringen Teilen lösten und den Gefrierpunkt von Lösungen deutlich beeinflussten. Das geringe Wärmeleitvermögen des Quarzes war eine weitere vorteilhafte Eigenschaft für die Versuchsanordnung. Im Anschluß an die Quarzcapillare wurden die Leitungen in Igelitschläuchen wasserdicht und elektrisch vollständig isoliert weitergeführt. Das Vergleichselement wurde unter entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen in einer DEWAR-Flasche in schmelzendem Eis gehalten.

Zur Analyse von Flüssigkeiten benutzten wir Kammern aus versilbertem Kupferblech von 10 cm Höhe, 3 cm Breite und 0,1 cm oder 0,2 cm Tiefe. In der vertikalen Achse befand sich in der Mitte der Kammern eine kleine Ausbuchtung zur Aufnahme der Quarzcapillare mit dem Meßelement (siehe Abb. 3). Das Meßelement war dadurch in seiner Lage genau fixiert. Die Größe der in diesen Kammern untersuchten Proben lag zwischen 1,5 und 4,5 cm³.

Diese Kammern eigneten sich nicht zur Untersuchung fester Gewebe. Eine entscheidende Voraussetzung für diese Messungen ist eine geringe Schichtdicke des Materials, um eine homogene Abkühlung zu sichern. Es erwies sich als schwierig und unvorteilhaft, das Gewebe in Kammern mit 1 mm Wandabstand zu pressen. Es wurde daher an das Thermoelement ein dünnes Kupferblech angelötet von ungefähr den gleichen Maßen (10×3 cm) wie die Kammern für Flüssigkeiten. Auf dieses Kupferblech wurde beiderseits das zu untersuchende Gewebe in Schichten von etwa 1 mm Dicke aufgelegt. Das ganze wurde sodann in eine seitlich offene Kupferkammer geschoben, die dann dem zu untersuchenden Gewebe fest angepreßt und in dieser Position fixiert wurde. In dieser Anordnung konnten 4–6 g Gewebe zur Messung benutzt werden.

Zur Ablesung diente ein Multiflexgalvanometer mit einer Empfindlichkeit von $3,9 \cdot 10^{-8}$ Ampere pro Skalenteil. Der Eingangswiderstand des Instrumentes betrug 16 Ohm. Es erwies sich als notwendig, die im Instrument eingebauten Widerstände wegen ihrer Temperaturempfindlichkeit auszuschalten. Sie wurden ersetzt durch außerhalb des Instruments liegende, nicht temperaturabhängige Widerstandssätze. Die Ablesegenauigkeit in dem verwandten Meßkreis betrug bei der höchsten Empfindlichkeit des Instrumentes $\pm 0,002^\circ$. Die Einstellungsgeschwindigkeit der gesamten Meßanordnung, die bei Temperatursprüngen von 6° gemessen wurde, war etwa 5 sec. Die Thermoelemente wurden in tiefen DEWAR-Flaschen geeicht.

Eichmessungen und Analyse der Meßverläufe.

In der Abb. 4 sind die Temperaturverläufe beim Gefrieren von $2,5 \text{ cm}^3$, $3,0 \text{ cm}^3$, $3,5 \text{ cm}^3$, $4,0 \text{ cm}^3$ und $4,5 \text{ cm}^3$ einer 1%igen Kochsalzlösung ($\Delta = -0,59^\circ$) in unserer Apparatur dargestellt. Die Kurven sind

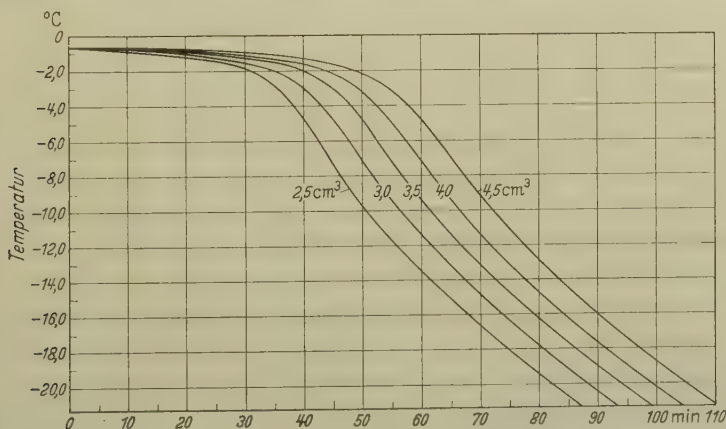


Abb. 4. Temperaturverläufe beim Gefrieren von $2,5$ – $4,5 \text{ cm}^3$ einer 1%igen Kochsalzlösung in unserer Meßanordnung.

jeweils Mittelwerte aus 3 Messungen. Mit geringeren Mengen als $1,5 \text{ cm}^3$ waren keine exakten Messungen möglich. Die Verläufe lassen sich für diese geringen Mengen mit hinreichender Genauigkeit aus der Schar der dargestellten Kurven extrapolieren, wenigstens in den tieferen Temperatur-

bereichen. Die Extrapolierung auf den Wert 0 ergibt keine Gerade, die durch den Nullpunkt des Systems geht, wie unter idealen Bedingungen zu erwarten wäre. Dafür muß im wesentlichen eine Änderung des Wärmeübergangs während des Beginns der Kristallisation verantwortlich sein, die auch in anderen Systemen zur Beobachtung kommt. Jedenfalls konnten wir in wiederholten Messungen beobachten, daß der Wärmeübergang im unterkühlten Zustand und während der Kristallisation bei sonst gleichen Bedingungen deutlich verschieden war. Diese Tatsache zwang uns dazu, für die quantitative Analyse jede Unterkühlung zu vermeiden, wie bereits festgestellt wurde.

Die Kurven verlaufen erwartungsgemäß im Anfangsteil im wesentlichen hyperbolisch, entsprechend dem in der Abb. 1 dargestellten Verlauf unter idealen Bedingungen. In dem dann folgenden Abschnitt finden sich annähernd parallele lineare Verläufe. Unterhalb -10° beginnt in allen Kurven eine gleiche Krümmung sichtbar zu werden. Diese ist im wesentlichen nicht auf die Änderung des Gradienten zurückzuführen, da Messungen im Bereich zwischen 20° und 30° noch einen praktisch linearen Temperaturabfall ergeben. Diese Krümmung findet sich auch in gleicher Weise bei der Messung mit Alkohol. Sie muß entscheidend bedingt sein durch die Einstellverhältnisse unserer Apparatur.

Die gemessenen Verläufe sind offenbar keine reinen Hyperbeln, wie wir sie für die ideale Gefrierung von echten Lösungen in der Abb. 1 dargestellt haben. Unter der Voraussetzung eines definierten Wärmeübergangs stellt der Temperaturverlauf eines Systems ein Maß für die Energieänderung in jedem Temperaturintervall dar. Bei der wirklichen Gefrierung einer Lösung bezieht sich die Energieänderung aber nicht nur auf die aus der Kristallisation herrührende Energie, sondern es treten eine ganze Reihe von anderen Faktoren ein. Für die Gefrierung einer Lösung kommt z. B. noch die notwendigerweise gleichzeitig eintretende Abkühlung des Behälters und die Abkühlung von Wasser und Eis der Lösung hinzu. Alle diese Einzelgrößen addieren sich im Verlauf der registrierten Kurven.:

1. Die Energieänderung durch Kristallisation stellt den wesentlichsten Betrag dar. Bei der Gefrierung von Wasser werden pro Gramm 80 cal frei. Die durch Gefrieren bis zur Temperatur T von einer idealen Lösung mit dem Gefrierpunkt T_0 abgegebene Energiemenge wird in einfacher Weise durch die Gleichung (1) dargestellt

$$E_1 = a \left[80 \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) \right]. \quad (1)$$

Die Gleichung ist nur sinnvoll, wenn $T \geq T_0$. Sie ergibt sich einfach aus der Tatsache, daß beim doppelten Gefrierpunkt nurmehr die Hälfte des Wassers in nicht gefrorenem Zustand vorliegt, beim dreifachen Gefrier-

punkt nurmehr ein Drittel usw., — entsprechend dem VAN'T HOFFschen Gesetz der Lösungen.

2. Komplizierter ist die Erfassung des Wärmebetragcs aus der Abkühlung von Lösungswasser und Eis unterhalb des Gefrierpunktes. Die Wassermenge a mit der spezifischen Wärme 1,0 nimmt bei fallender Temperatur mit einer hyperbolischen Funktion ab und das Eis mit der spezifischen Wärme 0,5 nimmt mit der gleichen Funktion zu. Der Energiebetrag, der dem System wäßrige Lösung — Eis bei kontinuierlicher Abkühlung bis zur Temperatur T entzogen wird, läßt sich als die Summe zweier bestimmter Integrale darstellen:

a) für die Abkühlung des Wassers

$$E_{2a} = a \int_{T_0}^T u \cdot \frac{T_0}{T} \cdot dT$$

u = spezifische Wärme des Wassers = 1,0,

b) für die Abkühlung des Eises

$$E_{2b} = a \int_{T_0}^T v \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) dT$$

v = spezifische Wärme des Eises = 0,5,

c) für die Abkühlung von Wasser und Eis insgesamt

$$\begin{aligned} E_2 &= a \int_{T_0}^T u \cdot \frac{T_0}{T} dT + a \int_{T_0}^T v \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) dT \\ &= \int_{T_0}^T \left[a \cdot v \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + a \cdot u \frac{T_0}{T} \right] dT \\ &= a \left[v \cdot (T - T_0) + (u - v) T_0 \ln \frac{T}{T_0} \right] \end{aligned} \quad (2)$$

3. Die Wärmeabgabe bei der Abkühlung von Körpern, die durch die Abkühlung keine Zustandsänderung erfahren, ist eine einfache Größe. Sie errechnet sich als Produkt von Wasserwert und Temperaturdifferenz-

$$E_3 = K_0 \cdot (T_0 - T). \quad (3)$$

Hierher gehört in unserem Fall der Energiebetrag aus der Abkühlung des metallenen Behälters für die Flüssigkeit. Bei der hohen Wärmeleitgeschwindigkeit des Materials und der gewählten geringen Abkühlungsgeschwindigkeit muß sich die metallene Kammer in Temperaturgleichgewicht mit dem Inhalt befinden. Darüber hinaus muß je nach den Wärmeübergangsbedingungen in Erwägung gezogen werden, daß ein Teil der inneren Wand des DEWAR-Gefäßes wesentlich im Temperaturgleichgewicht mit der Kammer steht. Dieser Anteil ist nicht ohne weiteres

zu bestimmen, da dafür die komplizierten Verhältnisse des Wärmeübergangs und der Temperaturverteilung in einer Anordnung aus gut leitenden und hoch isolierenden Schichten maßgeblich sind. Es muß vorausgesetzt werden, daß die Wärmekapazität (Wasserwert) dieser Anteile in dem von uns untersuchten Temperaturbereich unveränderlich ist. Wir können somit ihre Größe oberhalb des Gefrierpunktes bestimmen.

Es wurde daher in einer Meßserie die Abkühlungsgeschwindigkeit unseres Systems oberhalb des Gefrierpunktes bei Füllung mit verschiedenen Wassermengen gemessen. Da die Abkühlungsgeschwindigkeit bei konstantem Wärmeübergang umgekehrt proportional der gesamten Wärmekapazität ist, läßt sich aus der Änderung der Abkühlungsgeschwindigkeit durch Änderung der Kapazität um einen bestimmten Betrag die unbekannte blinde Kapazität berechnen:

$$\frac{x}{x+a} = \frac{m_2}{m_1}$$

x = unbekannte blinde Kapazität; a = hinzugefügte bekannte Kapazität z. B. $2 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$; m_1, m_2 Abkühlungsgeschwindigkeiten.

Die Messungen wurden mit drei verschiedenen Wassermengen durchgeführt. Die blinde Kapazität ergab sich dabei mit 13,5 cal. Der Wasserwert der Kammer betrug 3,9 cal. Unter der Annahme einer überall gleichen Wandstärke und einer spezifischen Wärme für Glas $\sigma = 0,20$ würde der fehlende Betrag von 9,6 cal genau dem Wasserwert der inneren Wendung des DEWAR-Gefäßes entsprechen. Wir müssen also annehmen, daß die innere Wand des DEWAR-Gefäßes wesentlich im Temperaturgleichgewicht mit der metallenen Meßkammer steht.

Die gesamte Energieabgabe bei der Gefrierung einer wäßrigen Lösung in einem Behälter ergibt also:

$$E = K_c (T_o - T) + a \left[v (T - T_o) + (u - v) T_o \ln \frac{T}{T_o} \right] + a \left[80 \left(1 - \frac{T_o}{T} \right) \right] \quad (4)$$

wenn a = Wassermenge, u = spezifische Wärme des Wassers, v = spezifische Wärme des Eises, K_c = blinde Kapazität konstant sind.

Die vorstehend genannten und rechnerisch aufgeführten Vorgänge treten bei der Gefrierung von wäßrigen Lösungen in einem Behälter mit Sicherheit ein. Sie müssen daher bei der Analyse eingesetzt werden. Ob darüber hinaus in organischen Materialien noch Änderungen des Energieinhaltes von meßbarer Größe stattfinden, die nicht von diesen Vorgängen bedingt sind, — und z. B. auf den Eiweißgehalt bezogen werden müssen, — läßt sich erst nach der quantitativen Analyse der Temperaturkurven entscheiden.

Der in Gleichung (3) dargestellte lineare Anteil aus der Abkühlung stellt eine Apparatekonstante dar. Er bedingt den wesentlichsten Teil der Neigung der dargestellten Kurven in dem mittleren linearen Abschnitt.

Unter bestimmten Voraussetzungen müßte auch noch die Abnahme der osmotischen Wirksamkeit der gelösten Substanzen mit fallender Temperatur in Ansatz gebracht werden. Für unser Anliegen der Gewinnung eines Meßverfahrens für die Wasserbindung in nicht homogenen Systemen braucht diese Größe nicht berücksichtigt zu werden, da alle Vergleiche notwendigerweise bei der gleichen Temperatur erfolgen und mithin alle verglichenen Größen die gleiche relative Verminderung erfahren würden.

Anwendungsmöglichkeiten.

Das dargestellte Verfahren erlaubt als erstes und wesentlichstes ein Urteil darüber, ob die Wasserbindung in einem bestimmten System homogen ist, — d. h. ob in diesem System Isotonie besteht. Ein isotones System muß während der kontinuierlichen Gefrierung das Wasser in der gleichen Weise zur Kristallisation freigeben wie eine Lösung gleicher Wassermenge und gleichen Gefrierpunktes. Der Temperaturverlauf für die Gefrierung eines isotonen Systems muß also — in einer Position, die seinem Wassergehalt entspricht —, exakt in die Kurvenschar für Salzlösungen gleichen Gefrierpunktes passen. Besteht bei gleichem Gefrierpunkt etwa eines Gewebes eine Abweichung von dem Verlauf der entsprechenden Salzlösungen, so liegt keine homogene Wasserbindung und mithin keine Isotonie vor. In einem solchen Fall kann aus dem Verlauf direkt abgelesen werden, welche Wassermenge und damit welcher Anteil des Gesamtwassers in der Phase vorhanden ist, die durch den Gefrierpunkt repräsentiert wird. In der Abb. 5 ist schematisch das Verhalten der Gefrierung eines Systems homogener und nicht homogener Wasserbindung innerhalb des für unsere Apparatur gültigen Koordinatensystems dargestellt. Die Kurve A stellt den Temperaturverlauf einer Lösung dar mit dem gleichen Gefrierpunkt wie eine 1% ige Kochsalzlösung und einer Wassermenge von $2,7 \text{ cm}^3$. Die Kurve B stellt den Temperaturverlauf beim Gefrieren eines zusammengesetzten Systems dar. Wie aus dem Koordinatensystem abzulesen ist, besteht dieses System aus einer Phase, die mit einer 1% igen Kochsalzlösung isoton ist und $3,1 \text{ cm}^3$ Wasser enthält. In der zweiten Phase mit dem Gefrierpunkt $-4,0^\circ$ ist $1,4 \text{ cm}^3$ Wasser enthalten. Die Wassermenge der zweiten Phase kann aus diesem Koordinatensystem nicht abgelesen werden. Sie kann nach einem einfachen Verfahren rechnerisch ermittelt werden.

Die beschriebene Methode bietet noch eine weitere Möglichkeit, — nämlich die exakte Messung von Gefrierpunkten organischer Substrate. Es ist bekannt, welche Schwierigkeiten diese Bestimmung in der Verfolgung der verschiedensten Probleme gemacht hat. Die wenigen früheren Untersuchungen, die auf Grund von Gefrierpunktsbestimmungen verschiedener Gewebe die Isotonie innerhalb des Gesamtorganismus in

Zweifel zogen^{1, 4, 20, 22}, verloren entscheidend an Überzeugungskraft durch das Fehlen einer zuverlässigen Methodik. Die tieferen Gefrierpunkte parenchymatöser Organe, die diese Autoren berichteten, wurden als Artefakte angesehen, die durch das Meßverfahren oder die Vorbereitung dazu bedingt waren. Mit unserem Verfahren kann jede Unterkühlung vermieden werden oder ein gewünschter Grad an Unterkühlung reproduzierbar hergestellt werden. Der Nachweis der Realität eines Gefrierpunktes ist aus dem weiteren Temperaturverlauf mit Sicherheit zu

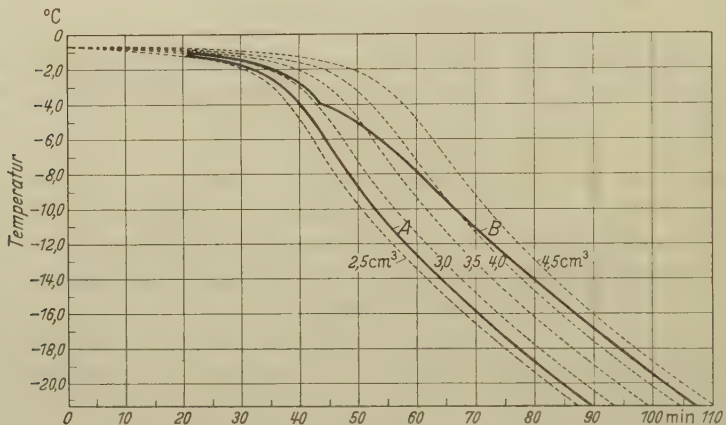


Abb. 5. Schematische Eintragung zweier Meßverläufe in die als Koordinatensystem unterlegte Abb. 4. Die Kurve A stellt den Temperaturverlauf einer einfachen Lösung dar mit dem gleichen Gefrierpunkt, wie ihn das unterlegte Koordinatensystem hat, und einer Wassermenge von 2,7 cm³. — Die Kurve B stellt den Verlauf bei der Messung eines zusammengesetzten Systems in unserer Anordnung dar. Die Gesamtwassermenge beträgt 4,5 cm³. Dieses teilt sich auf in eine Phase mit dem Gefrierpunkt einer 1% igen Kochsalzlösung ($\Delta = -0,59^\circ$) und einer Wassermenge von 3,1 cm³ und eine zweite Phase mit dem Gefrierpunkt $-4,0^\circ$ und einem Wassergehalt von 1,4 cm³.

führen. Die Bedeutung der Gefrierpunktsbestimmung organischer Substrate wird in einer der folgenden Arbeiten ausführlich erörtert.

Die Grenzen dieser Methode ergeben sich zunächst aus der Art der Messung. Als thermodynamische Messung erlaubt sie keinen Rückschluß auf die Mechanismen, die für die beobachteten Größen maßgeblich sind. Es ist also aus dieser Messung nicht möglich, auf die Art der Kräfte zu schließen, die für eine bestimmte beobachtete Wasserbindung verantwortlich sind. Weiterhin ist anzunehmen, daß das Meßverfahren selbst möglicherweise nicht ohne Einfluß auf die gemessenen Größen ist. Die langsame Abkühlung, die wir zur Einleitung der Messung durchführen müssen, ist der allgemeinen Auffassung nach zwar ohne wesentlichen Einfluß auf Pflanzengewebe. Warmblütergewebe könnten dagegen während der Abkühlung Veränderungen erfahren, die die Größen, die Gegenstand der Messung sind, nicht unbeeinflusst lassen. Das ist um so mehr zu befürchten, als es erwiesen ist, daß die normale Ionenverteilung

zwischen intra- und extracellulärem Raum durch die Abkühlung beeinflusst wird^{2, 5}. Es ist nicht wahrscheinlich, daß die Wasserverteilung davon nicht betroffen ist. Ob diese Tatsache von Bedeutung für den Wert der hier beschriebenen Methode ist, muß sich aus der Meßfahung erweisen.

Es ist noch zu bemerken, daß dieses Meßverfahren voraussetzt, daß die Kristallisationsgeschwindigkeit nicht als limitierende Größe in Erscheinung tritt. Diese Frage muß jeweils geprüft werden.

Zusammenfassung.

Es wird die Theorie und Methodik eines Meßverfahrens beschrieben, mit dem es möglich ist, die Wasserbindung in organischen Systemen quantitativ darzustellen. Das Verfahren ist nach dem Prinzip der thermischen Analyse aufgebaut. Es ist damit möglich:

1. exakte Gefrierpunktsbestimmungen organischer Substrate durchzuführen,
2. zu beurteilen, ob die Wasserbindung in einem System homogen ist, — d. h. ob Isotonie besteht,
3. in inhomogenem Systemen zu bestimmen, wieviel abgrenzbare Phasen mit welchen Gefrierpunkten und welchen zugehörigen Wassermengen vorhanden sind.

Literatur.

- ¹ COLLIP, J. B.: J. of Biol. Chem. **42**, 221 (1920). — ² DANOWSKI, TH.: J. of Biol. Chem. **139**, 693 (1941). — ³ DANOWSKI, T. S.: Amer. J. Med. **10**, 468 (1951). — ⁴ GÖMÖRI, P., u. S. MOLNAR: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **167**, 459 (1932). — ⁵ HARRIS, J. E.: J. of Biol. Chem. **141**, 579 (1941). — ⁶ HILL, A. V., and P. S. KUPALOV: Proc. Roy. Soc. B **106**, 445 (1950). — ⁷ HILL, A. V.: Adventures in Biophysics. Oxford: University press 1931. — ⁸ HÖBER, R.: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 5. Aufl. Leipzig 1924. — ⁹ LEHNARTZ, E.: Chemische Physiologie, 2. Aufl. Berlin 1938. — ¹⁰ MARGARIA, R.: J. of Physiol. **70**, 417 (1930). — ¹¹ MARGARIA, R.: Proc. Roy. Soc. B **107**, 606 (1931). — ¹² OPIE, E. L.: J. of Exper. Med. **89**, 185 (1949). — ¹³ OPIE, E. L.: J. of Exper. Med. **91**, 285 (1950). — ¹⁴ OPIE, E. L., and M. B. ROTHBARD: Arch. of Path. **50**, 800 (1950). — ¹⁵ PETERS, J. P.: Body water. Springfield, Ill., 1935. — ¹⁶ PICHOTKA, J.: Habilitationsschrift. Freiburg 1950. Z. Biol. **105**, 181 (1952). — ¹⁷ PICHOTKA, J., u. W. HÖFLER: Im Druck. — ¹⁸ REIN, H.: Physiologie des Menschen. 3. Aufl. Berlin 1940. — ¹⁹ ROBINSON, J. R.: Proc. Roy. Soc. Lond. B **137**, 378 (1950). — ²⁰ SABATTANI, L.: J. physiol. path. gén., Paris **3**, 939 (1902). — ²¹ STERN, J. R., L. V. EGGLESTON, R. HEMS and H. A. KREBS: Biochemic. J. **44**, 410 (1949). — ²² URANO: Z. Biol. **32**, 212 (1908).

Dozent Dr. J. PICHOTKA, Freiburg/Br., Physiolog. Inst. d. Univ.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Systemen*.

II. Die Wasserbindung in pflanzlichem Gewebe (Kartoffel).

Von

J. PICHOTKA und W. HÖFLER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Februar 1954.)

Durch eine Reihe von Veröffentlichungen der letzten Jahre wurde die Theorie von der osmotischen Isotonie innerhalb der Organismen erschüttert^{6, 7, 8, 9, 12, 13}. Aus den Ergebnissen dieser Arbeiten muß geschlossen werden, daß der osmotische Druck innerhalb der Zellen erheblich höher sein muß als im extracellulären Raum. Diese ungleiche Wasserverteilung ist das Ergebnis einer aktiven Zelleistung^{12, 13}. Mit der Unterbindung des oxydativen Stoffwechsels kommt es zum Übertritt von Wasser aus dem extracellulären in den intracellulären Raum. Die Wiederherstellung der Atmung führt auch zur Wiederherstellung der ursprünglichen Wasserverteilung¹².

Diese Beobachtungen sind zwar an tierischen Geweben gemacht worden, aber es kann kein Zweifel darüber bestehen, daß sie auch für pflanzliche Gewebe gültig sind. Für die modellmäßige Untersuchung dieser Fragen bieten pflanzliche Gewebe erhebliche Vorteile. Die charakteristische Wasserverteilung in den Geweben ist offenbar an die Aufrechterhaltung des lebenden Zustandes gebunden. Tierische Gewebe erfahren bei der Herausnahme aus dem Organismus und bei der Vorbereitung zur Messung unvermeidlich eine wesentliche Schädigung, die den Zustand und die Verteilung des Wassers beeinflussen kann. Für pflanzliche Gewebe gelten diese Nachteile nicht; sie können praktisch unverändert zur Messung kommen. Darüber hinaus sind pflanzliche Gewebe — wie etwa in der Kartoffel — ohne Aufwand über längere Zeit in praktisch unveränderter Form verfügbar. Wegen dieser Vorteile wurden die im folgenden berichteten Messungen über die Wasserbindung in Geweben an der Kartoffel gemacht.

Methodik.

Die Messungen wurden an Scheiben von Kartoffelgewebe, am Gewebsbrei und Preßsaft durchgeführt. Die Scheiben wurden mit einer einfachen Schneideinrichtung planparallel auf eine Dicke von 1,3 mm geschnitten. Damit paßten sie genau

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

in die dafür hergerichtete Meßeinrichtung. Der Gewebsbrei wurde hergestellt, indem die geschälten Kartoffeln zunächst mit der üblichen Küchenreibe verkleinert wurden. Der so hergestellte, relativ grobe Brei wurde in kleinen Portionen im Mörser bis zur völligen Homogenität verkleinert. Aus diesem feinen Gewebsbrei wurde, soweit erforderlich, durch Auspressen in einem Säckchen oder Handtuch der Preßsaft hergestellt.

Die Experimente fanden von August bis Dezember statt. Es wurden drei verschiedene handelsübliche Kartoffelsorten benutzt. Die Messungen wurden in der Weise durchgeführt, wie in der vorhergehenden Arbeit beschrieben wurde¹⁰. Für die Gefrierung der Kartoffelscheiben wurde ein besonderes Meßelement hergestellt, in das die Scheiben von 1,3 mm Dicke genau passend eingesetzt wurden und dann mit dem Meßelement in die Kammer eingeschoben wurden. Auf diese Weise war ein enger Kontakt zwischen dem Gewebe und dem Meßelement hergestellt. Es konnte kein Flüssigkeitsverlust eintreten und das Gewebe kam völlig ungeschädigt zur Messung. Es ist noch zu bemerken, daß keinerlei Ersatzflüssigkeiten verwandt wurden. Die Durchschnittswerte der Messungen sind mit dem mittleren Fehler des Mittelwertes angegeben.

Ergebnisse.

Der Verlauf der Gefrierung eines unveränderten Stückchen Kartoffelgewebes ist in der Abb. 1 dargestellt. Dazu ist ein Beispiel gewählt worden, in dem erst eine deutliche Unterkühlung eingetreten war, bevor die Kristallisation durch Impfung eingeleitet wurde. Die Temperatur steigt dabei in charakteristischer Weise steil an bis auf $-0,88^{\circ}$. Bei dieser Temperatur liegt ein deutlicher und scharf ausgeprägter Gefrierpunkt, wie sich an dem regelmäßigen hyperbolischen Temperaturabfall in den folgenden 10 min nachweisen läßt. Wenn wir die Unterkühlung in Ansatz bringen, würde der Gefrierpunkt noch etwas weiter heraufücken. Diese Frage wird später noch genauer diskutiert.

Bei $-1,33^{\circ}$ setzt 13 min nach Beginn der Messung ein erneuter Stillstand der Temperatur ein, der dann ebenfalls in einen regelmäßigen hyperbolischen Abfall übergeht. Hier liegt also nach der gültigen Definition ein zweiter Gefrierpunkt vor. Dieser Befund ist absolut routinemäßig. In der Tab. 1 sind die Ergebnisse einer Anzahl von Messungen

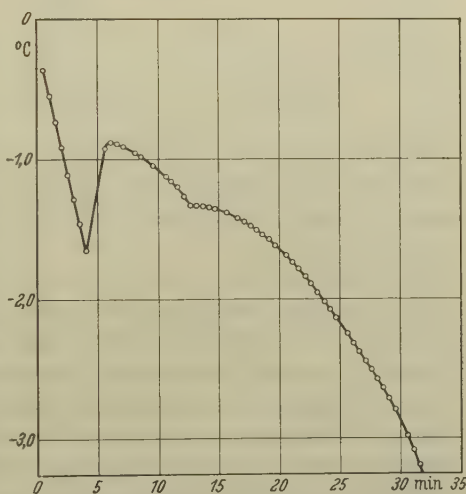


Abb. 1. Experiment 319. Gefrierung einer Scheibe von Kartoffelgewebe. Ordinate: Temperatur. Abszisse: Zeit in Minuten. Bei einer Temperatur von $-1,7^{\circ}$ wird durch Impfung die Gefrierung eingeleitet. Es folgt ein steiler Aufstieg auf $-0,88^{\circ}$. Der dann folgende regelmäßige Abfall wird bei $-1,33^{\circ}$ durch einen erneuten Stillstand der Temperatur unterbrochen. Danach fällt die Temperatur wieder regelmäßig.

zusammengestellt. Es sind angegeben die Temperaturwerte des ersten und zweiten Gefrierpunktes und die Differenz zwischen beiden. Die Werte sind getrennt nach den verwandten Sorten.

Tabelle 1.

Experiment Nr.	Gewebsschnitt	Erster Gefrierpunkt in Grad	Zweiter Gefrierpunkt in Grad	Differenz in Grad
191	Sorte I	— 1,15	— 1,63	0,48
199		— 1,06	— 1,52	0,46
206		— 1,10	— 1,53	0,43
248		— 1,05	— 1,59	0,54
254		— 0,90	— 1,34	0,44
257		— 0,90	— 1,37	0,47
194	Sorte II	— 0,69	— 1,14	0,45
195		— 0,87	— 1,14	0,27
193		— 0,74	— 1,08	0,34
198a		— 0,78	— 1,17	0,39
297	Sorte III	— 0,97	— 1,47	0,50
311		— 1,06	— 1,60	0,54
319		— 0,88	— 1,33	0,45
321		— 0,86	— 1,32	0,46
326		— 1,08	— 1,56	0,48
	Mittelwerte	— 0,94 $\pm$ 0,04	— 1,39 $\pm$ 0,05	0,45 $\pm$ 0,02

In 15 Messungen, in denen der Temperaturverlauf beim Gefrieren eines frischen Stückchens Kartoffelgewebe verfolgt wurde, fand sich der erste Gefrierpunkt durchschnittlich bei $-0,94^\circ \pm 0,04^\circ$. Der zweite Gefrierpunkt lag bei $-1,39^\circ \pm 0,05^\circ$. Der mittlere Abstand zwischen den beiden Gefrierpunkten betrug $0,45^\circ \pm 0,02^\circ$. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, finden sich die konstantesten Werte für die Differenz zwischen den beiden Gefrierpunkten. Das gilt insbesondere für die Sorte I in unseren Messungen, bei der die Differenz zwischen den beiden Gefrierpunkten praktisch konstant ist. Große Unterschiede für diesen Wert finden sich dagegen bei der Sorte II, während Sorte III wieder eine geringere Streuung aufweist. Um die Korrelation zwischen den dargestellten Werten zu untersuchen, ist das Zahlenmaterial zu klein.

Bei der Wiederholung der Messungen, von denen ein Beispiel in der Abb. 1 dargestellt ist, wurde beobachtet, daß sich der Verlauf der Temperaturkurve bei der zweiten und dritten Gefrierung desselben Untersuchungsmaterials grundlegend geändert hatte. Die Gefrierpunktsdepression wurde deutlich vermindert. Der zweite Gefrierpunkt, der in den ersten Messungen jeweils in aller Deutlichkeit ausgeprägt war, verschwand, und es zeigte sich annähernd ein Verlauf der Temperatur, wie er für eine einfache Lösung charakteristisch ist. Die Verminderung der

Gefrierpunktsdepression zwischen der ersten und zweiten Messung betrug bis zu mehreren Zehntelgrad. Durch die Gefrierung war also eine Minderung der osmotischen Energie unseres Systems eingetreten, ohne daß Flüssigkeit oder gelöste Substanzen ein- oder ausgetreten waren.

Um diesen Sachverhalt zu klären, führten wir zunächst Messungen an Gewebsbrei und Preßsaft von Kartoffeln durch. Die Messungen an Preßsäften ergaben Gefrierpunkte von $-0,64^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ und einen vollkommen regelmäßigen Temperaturverlauf, wie er für Lösungen charakteristisch ist (Abb. 2). Praktisch das gleiche Verhalten fand sich bei den

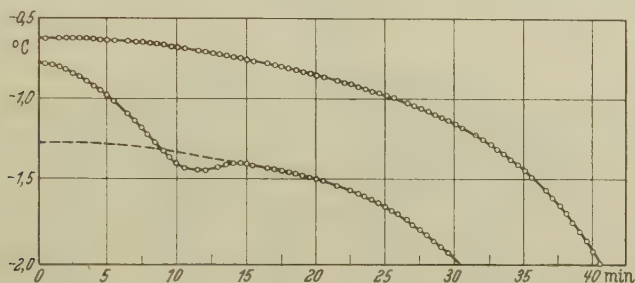


Abb. 2. Experiment 334 und 335. Gefrierung einer Scheibe von Kartoffelgewebe. Ordinate: Temperatur. Abszisse: Zeit in Minuten. Untere Kurve: erste Gefrierung, obere Kurve: zweite Gefrierung. Bei der ersten Gefrierung ist der Anfangsteil mit einer Unterkühlung von $0,3^{\circ}$ fortgelassen. Die Kurve beginnt mit dem Erreichen des ersten Gefrierpunktes bei $-0,78^{\circ}$. Der regelmäßige Abfall ist dann durch einen leichten Wiederanstieg unterbrochen, der zum zweiten Gefrierpunkt mit $-1,33^{\circ}$ führt. Offenbar ist es zu einer leichten Unterkühlung der zweiten Phase gekommen. Die gestrichelte Linie stellt die rechnerische Extrapolation des Verlaufs nach dem zweiten Gefrierpunkt dar (s. Text). Die erste Gefrierung wurde bis auf -25° geführt. Die obere Kurve stellt den Verlauf bei der zweiten Gefrierung dar. Bei der dritten Gefrierung fand sich das gleiche Verhalten. Der Gefrierpunkt ist auf $-0,63^{\circ}$ heraufgerückt und es findet sich der regelmäßige Abfall, wie er für eine Salzlösung charakteristisch ist. Dieser Verlauf ist auch für den Preßsaft charakteristisch.

Messungen am Gewebsbrei. Zwar fand sich beim Gewebsbrei meist ein Gefrierpunkt, der um einige Hundertstel Grad tiefer lag als der des zugehörigen Preßsaftes. Diese geringe Differenz muß wohl auf die nicht vollständige Homogenisierung des Gewebes bezogen werden. Der Verlauf der Temperatur bei der Gefrierung des Gewebsbreies zeigte keine Beziehung zu dem Verhalten, wie es in Abb. 1 für das lebende Kartoffelgewebe dargestellt ist, sondern entsprach dem Verhalten des Preßsaftes.

Zur Klarstellung der Beziehungen wurde unter allen Vorsichtsmaßnahmen eine Reihe von Messungen durchgeführt, in denen alle uns interessierenden Werte jeweils von derselben Knolle gewonnen wurden. Dabei wurde die erste Gefrierung des Gewebsstückchens bis unter -20° geführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 dargestellt. Die in den Mittelwerten vorhandenen Relationen gelten in gleicher Weise für jede der einzelnen Meßgruppen. Gewebsbrei mit $-0,67^{\circ}$ und einmal erfrorenes Kartoffelgewebe mit $-0,69^{\circ}$ haben einen einfachen Gefrierpunkt von annähernd der gleichen Größe wie der Preßsaft mit $-0,64^{\circ}$. Es wurde bereits

betont, daß sich diese drei Materialien bei der thermischen Analyse wesentlich wie einfache Lösungen verhalten. Ihre osmotische Energie ist also durch den Gefrierpunkt richtig angegeben. Das ungeschädigte Kartoffelgewebe hat dagegen einen ersten Gefrierpunkt von $-0,87^\circ$. Selbst wenn wir diesen Wert als maßgeblich für den osmotischen Druck des gesamten Wassers im lebenden Kartoffelgewebe annähmen, wäre im Preßsaft und im zerstörten Gewebe das Wasser unter einer erheblich geringeren osmotischen Spannung. Tatsächlich ist aber der größere Teil des Wassers im lebenden Kartoffelgewebe stärker gebunden ($\Delta = -1,34^\circ$) als dem

Tabelle 2.

Experiment Nr.	Gewebsschnitt					
	Erste Gefrierung			Zweite Gefrierung	Gewebsbrei	Preßsaft
	Erster Gefrierpunkt in Grad	Zweiter Gefrierpunkt in Grad	Differenz in Grad	Gefrierpunkt in Grad	Gefrierpunkt in Grad	Gefrierpunkt in Grad
333	-0,86	-1,30	0,44	-0,67	-0,68	-0,65
	-0,89	-1,34	0,45	-0,67	-0,65	-0,61
	-0,82	-1,34	0,52	-0,62	-0,59	-0,59
	-0,90	-1,37	0,47	-0,81	-0,78	-0,72
Mittelwerte	-0,87	-1,34	0,47	-0,69	-0,67	-0,64

ersten Gefrierpunkt ($\Delta = -0,87^\circ$) entspricht. — Durch die mechanische Zerstörung der Gewebsstruktur kommt es ebenso wie durch die Erfrierung zu einer starken Herabsetzung der osmotischen Energie des Systems. Offensichtlich bewegt sich dabei die Gefrierpunktserniedrigung des Gewebsbreies auf einen Wert zu, der dem des Preßsaftes entspricht. Die Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes muß ausschließlich durch die Konzentration gelöster Substanzen bedingt sein. Man muß also den Schluß ziehen, daß die nach der Zerstörung des Kartoffelgewebes verbleibende Gefrierpunktserniedrigung durch die Konzentration an gelösten Substanzen bedingt ist.

Die bereits erwähnte Änderung des Verlaufs der thermischen Analyse beim wiederholten Gefrieren führte schließlich zu dem gleichen Ergebnis wie nach der mechanischen Zerstörung. Es wurde bereits erwähnt, daß bei der zweiten Gefrierung desselben Gewebstückes der zweite Gefrierpunkt nicht mehr zum Vorschein kam, und daß sich ein annähernd normaler Verlauf der Analyse mit einer deutlichen verminderten Gefrierpunktsdepression fand. Bei mehrfach wiederholter Gefrierung stieg der Gefrierpunkt auf praktisch den gleichen Wert an, wie er für den Gewebsbrei beobachtet wurde. Der Verlauf der Analyse zeigte dabei keine wesentlichen Abweichungen von der einer Lösung gleicher Wassermenge und einer Salzkonzentration, die dem Gefrierpunkt entsprach.

Die bisherigen Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Lebendes Kartoffelgewebe zeigt bei der thermischen Analyse ein Verhalten, als ob es zwei unabhängige wäßrige Phasen enthielte mit den durchschnittlichen Gefrierpunkten von $-0,94^\circ \pm 0,04^\circ$ und $-1,39^\circ \pm 0,05^\circ$. Der Preßsaft von Kartoffeln zeigt dagegen bei der thermischen Analyse das Verhalten einer einfachen Lösung mit einem Gefrierpunkt von $-0,64^\circ \pm 0,02^\circ$. Praktisch das gleiche Resultat ergibt sich bei der Gefrierung eines feinzerstoßenen Gewebsbreies. Nach der mehrmaligen Gefrierung von unverletztem Kartoffelgewebe findet sich bei der thermischen Analyse schließlich das Wasser in dem gleichen Bindungszustand wie im Preßsaft und im Gewebsbrei.

Quantitative Auswertung.

Zum Verständnis der hier zur Diskussion stehenden Probleme ist es notwendig, die Differenz an osmotischer Energie zwischen dem lebenden Gewebe und dem durch Erfrieren oder Zerreiben getöteten Gewebe quantitativ festzustellen.

Der Verlauf der thermischen Analyse von Gewebsbrei oder erfrorenem Kartoffelgewebe zeigt innerhalb der Fehlergrenze durchaus das Verhalten, das für eine Lösung von gleichem Gefrierpunkt und gleichem Wassergehalt charakteristisch ist. Die osmotische Energie für das abgetötete Gewebe ist mithin durch Gefrierpunktserniedrigung und Wassermenge richtig angegeben. Schwieriger sind die Verhältnisse im lebenden Gewebe. Wie bereits berichtet wurde, finden sich im lebenden Gewebe zwei deutlich voneinander unterschiedene Gefrierpunkte. Der Abfall der Temperatur nach dem Passieren dieser beiden Gefrierpunkte erfolgt so, als ob es sich um zwei Salzlösungen von entsprechenden Konzentrationen handelt. Es liegt hier also ein gleiches Verhalten der thermischen Analyse vor, wie es in der vorhergehenden Arbeit¹⁰ für die Addition zweier verschieden konzentrierter unabhängiger Salzlösungen dargestellt wurde. Die osmotische Energie eines solchen Systems ergibt sich sinngemäß aus der Addition der Energie der einzelnen Phasen. Der Verlust an osmotischer Energie bei der Zerstörung des Gewebes ist mithin

$$V_1 \cdot P_1 + V_2 \cdot P_2 - V_3 \cdot P_3 = A, \quad (1)$$

wenn P_1 und P_2 die durch den Gefrierpunkt ausgedrückten osmotischen Spannungen der beiden Phasen im lebenden Gewebe sind, — P_3 entsprechend die osmotische Spannung des getöteten Gewebes oder des Preßsaftes angibt. V_1 , V_2 und V_3 sind die jeweils zu diesen Gefrierpunkten gehörigen Wassermengen. Da die Gesamtwassermenge nicht verändert wird, ist

$$V_1 + V_2 = V_3. \quad (2)$$

Es muß mithin nur festgestellt werden, wie sich die Gesamtwassermenge (V_3) auf die beiden Phasen im lebenden Gewebe verteilt. Wie in der

vorhergehenden Arbeit dargelegt wurde, entspricht der hyperbolische Verlauf nach dem Passieren des zweiten Gefrierpunktes nicht der zweiten Phase allein, sondern der Addition beider Phasen. Man kann nun rechnerisch mit großer Genauigkeit den Verlauf dieses Hyperbelteiles nach vorn extrapolieren; dieser resultierende Hyperbelteil gibt im Schnittpunkt mit der Zeit 0 einen Gefrierpunkt an, der der Addition der beiden getrennten Phasen unter Berücksichtigung der jeweiligen Wassermengen und Konzentrationen entspricht. Daraus läßt sich dann die Wasserverteilung auf die beiden Phasen unmittelbar errechnen. Das Verfahren wird ausführlich im Rahmen einer anderen Arbeit diskutiert¹¹.

In der Abb. 2 ist der Verlauf einer thermischen Analyse des lebenden Kartoffelgewebes dargestellt, in der der rechnerisch ermittelte Anfangsteil für die Hyperbel, die die Addition beider Phasen darstellt, eingetragen ist. Die Messung ist insofern interessant, als hier der seltene Fall einer deutlichen Unterkühlung der zweiten Phase eingetreten ist. Die geringe Unterkühlung der ersten Phase ist in der Zeichnung ausgelassen. Die aus dieser Messung ermittelte Wassermenge für die erste Phase beträgt 9%.

Wenn wir die Mittelwerte der Gefrierpunkte aus der Tab. 2 unterlegen und einen Wasseranteil der ersten Phase von 10% und 20% annehmen, so stellt sich der Verlust an osmotischer Energie durch die Zerstörung des Gewebes folgendermaßen dar.

Gesamtwassermenge 1,00 und Δ als Maß der osmotischen Spannung
 $0,10 \cdot (-0,87) + 0,90 \cdot (-1,34) - 1,00 \cdot (-0,63) = \Delta = 1,00 \cdot (-0,653)$.

Wenn 10% des gesamten Wassers in der ersten Phase enthalten sind, geht also etwas mehr als 50% der gesamten osmotischen Energie verloren.
 $0,20 \cdot (-0,87) + 0,80 \cdot (-1,34) - 1,00 \cdot (-0,64) = \Delta = 1,00 \cdot (-0,606)$.

Wenn 20% des Wassers in der ersten Phase wären, betrüge der Verlust an osmotischer Energie immer noch 48% des Ausgangswertes.

Die osmotische Energie des lebenden Gewebes, wie sie sich aus der thermischen Analyse ergibt, wird mit der Zerstörung des Gewebes durch Erfrieren oder Zermahlen etwa zur Hälfte vernichtet. Der verbleibende Anteil entspricht der Konzentration gelöster Substanzen, wie sie im Preßsaft vorliegt.

Es muß noch einmal betont werden, daß der Ausdruck *Phasen* in dieser Untersuchung entsprechend der Meßmethode rein thermodynamisch gemeint ist. Es ist also aus diesem Ergebnis nicht ohne weiteres zu schließen, daß die durch den ersten und zweiten Gefrierpunkt des lebenden Gewebes charakterisierten Wassermengen im physikalischen Sinn als räumlich getrennte Phasen vorliegen. Diese Frage wird in einer anderen Untersuchung behandelt. *Osmotische Energie* ist im Rahmen dieser Arbeit als Maß für die Wasserbindung gebraucht — unabhängig davon, welcher Art sie ist.

Diskussion.

Quantitative Untersuchungen über die Wasserbindung in pflanzlichen Geweben liegen bisher in der Literatur nicht vor, da die methodischen Voraussetzungen fehlten. Im übrigen stehen unsere Ergebnisse mit den bisherigen in gutem Einklang.

So wurde die Existenz von zwei Gefrierpunkten im lebenden Gewebe bereits von MAXIMOW und ZACHAROWA beobachtet und von LUYET und GEHENIO an der Kartoffel ausführlich untersucht. Alle Untersucher stimmen darin überein, daß nach dem Abtöten des Gewebes nur ein Gefrierpunkt erhalten bleibt. Die Ursache des Auftretens von zwei Gefrierpunkten sehen MAXIMOW und ZACHAROWA in der Verletzung des Gewebes durch das Einstechen der Thermonadel mit dem damit verbundenen Austritt des Zellsafts. LUYET und GEHENIO nehmen an, daß die beiden Gefrierpunkte durch das unabhängige Gefrieren einer extra- und intracellulären Phase bedingt seien. Beiden Hypothesen fehlten die wesentlichen Voraussetzungen, da die verwandten Methoden keine Bestimmung der in den beiden Phasen enthaltenen Wassermengen ermöglichten.

Die Lage der Gefrierpunkte im lebenden Kartoffelgewebe wird von den verschiedenen Autoren verschieden angegeben. Wie aus den in Tab. 1 angegebenen Werten hervorgeht, bestehen starke Unterschiede zwischen den Durchschnittswerten verschiedener Sorten. Aber auch innerhalb der Sorten gibt es hohe Differenzen. Die Werte für den ersten Gefrierpunkt liegen nach der Literatur zwischen $-0,98^{\circ}$ und $-1,89^{\circ}$ ^{3, 4, 5, 14, 15}. Genauere Angaben über die Lage beider Gefrierpunkte fanden wir nur noch bei LUYET und GEHENIO. Ihre Werte liegen erheblich tiefer als die unseren. Diese Differenz kann zum Teil auf der Trägheit der von ihnen benutzten Quecksilberthermometer beruhen, zum wesentlichen Teil ist sie aber Folge der Unterkühlung, wie noch genauer ausgeführt wird.

Die Verminderung der Gefrierpunktsdepression, die mit der Zerstörung oder mit dem Abtöten des Gewebes eintritt, wurde von allen Autoren beobachtet, die sich mit dieser Frage befaßten^{1, 2, 4, 5, 14, 16}. Die angegebenen Werte sind verschieden je nach Objekt und Meßmethode. MÜLLER-THURGAU fand einen durchschnittlichen Gefrierpunkt von $-0,98^{\circ}$ für lebendes Kartoffelgewebe und von $-0,55^{\circ}$ für durch Erfrieren getötetes Gewebe. Bei der roten Rübe fand MAXIMOW $-2,15^{\circ}$ für lebendes und $-1,25^{\circ}$ für totes Gewebe. Der Gefrierpunkt von toten Weintrauben war in den Messungen von CARRICK durchschnittlich $0,9^{\circ}$ höher als bei lebenden Beeren. Der hier als Gefrierpunkt des lebenden Gewebes angegebene Wert entspricht dem ersten Gefrierpunkt unserer Messung. In allen diesen Messungen wurde darauf geachtet, daß durch die Abtötung des Gewebes keinerlei Verlust an Flüssigkeit oder gelöster

Substanz eintreten konnte. Es muß also in all diesen Messungen durch die Zerstörung des Gewebes zu einem erheblichen Verlust an osmotischer Energie gekommen sein, in der gleichen Weise wie in unseren Versuchen.

WALTER und WEISMANN versuchten in einer experimentellen Studie nachzuweisen, daß die Differenz in den Gefrierpunktsdepressionen zwischen lebendem und totem Gewebe nicht real sei. Sie nahmen an, daß der niedrigere Gefrierpunkt des lebenden Gewebes sozusagen als Einstellfehler bei einer außerordentlich geringen Kristallisationsgeschwindigkeit zustande komme. Das von ihnen benutzte Verfahren zum Nachweis des gleichen „osmotischen Wertes“ von lebendem und totem Gewebe ist physikalisch und mathematisch unrichtig und führt zu absurden Folgerungen.

Aus unseren Messungen ergibt sich im übrigen, daß die Einwände von WALTER und WEISMANN unberechtigt sind. Bei unseren langsamen Abkühlgeschwindigkeiten trat die Kristallisationsgeschwindigkeit nicht als limitierender Faktor in Erscheinung. In gleichen Zeiträumen froren aus lebenden und toten Geweben die gleichen Wassermengen aus, wie sich aus dem Verlauf der thermischen Analyse ergibt. Trotzdem war der Temperaturverlauf bei lebendem und totem Gewebe so charakteristisch verschieden. An dem thermodynamisch verschiedenen Bindungszustand des Wassers in lebendem und totem Gewebe kann darnach nicht gezweifelt werden. Über die Art der Kräfte, die im lebenden Gewebe diese zusätzliche Wasserbindung bewirken, kann aus unseren Messungen nichts geschlossen werden.

Es ist noch bemerkenswert, daß Unterkühlungen im lebenden Gewebe sich in der Verschiebung des ersten Gefrierpunktes viel stärker auswirken müssen als in Salzlösungen. Die Aufwärmung des gesamten Wassers geschieht dabei durch Kristallisationswärme von Wasser, das der ersten Phase angehört. Wenn wir annehmen, daß die erste Phase 10% des gesamten Wassers darstellt, so wird bei einem bestimmten Grad der Unterkühlung der Gefrierpunkt 10mal tiefer unter seinen wirklichen Wert zu liegen kommen, als es unter gleichen Umständen für eine Salzlösung der Fall wäre. Eine Unterkühlung von $0,5^\circ$ bedingt in einem solchen System somit bereits einen Fehler von 6% in bezug auf den ersten Gefrierpunkt. Die in der Literatur berichteten tieferen Gefrierpunkte sind im wesentlichen auf diese Tatsache zurückzuführen, da in diesen Messungen stets erhebliche Unterkühlungen auftraten. Die Abhängigkeit des Gefrierpunktes vom Unterkühlungsgrad und der Kühlgeschwindigkeit wird damit ebenfalls erklärt.

Zusammenfassung.

1. Das lebende Kartoffelgewebe zeigt bei der thermischen Analyse ein Verhalten, als ob das im Gewebe vorhandene Wasser in zwei unabhängigen Phasen gebunden wäre. Diesen beiden Phasen entsprechen in

unseren Messungen Gefrierpunkte von $-0,98^{\circ} \pm 0,04^{\circ}$ und von $-1,39^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$.

2. Nach dem wiederholten Gefrieren findet sich nur mehr ein Gefrierpunkt und ein Verlauf der thermischen Analyse wie bei einer einfachen Lösung. Die Gefrierpunktserniedrigung ist zudem ganz erheblich geringer geworden ($\Delta = -0,69^{\circ}$).

3. Der Preßsaft der Kartoffel hatte in unseren Messungen eine Gefrierpunktserniedrigung von $-0,64^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$, die ausschließlich von der Konzentration gelöster Substanzen bedingt sein muß.

4. Der Gewebstreiß der Kartoffel hatte eine durchschnittliche Gefrierpunktserniedrigung von $-0,67^{\circ}$ und bei der thermischen Analyse ein Verhalten wie eine einfache Lösung. Die geringe Differenz zwischen den Gefrierpunkten des Preßsaftes einerseits ($\Delta = -0,64^{\circ}$) und des Gewebstreißes ($\Delta = -0,67^{\circ}$) und des erfrorenen Kartoffelgewebes ($\Delta = -0,69^{\circ}$) andererseits, muß auf eine nicht ganz vollständige Zerstörung des Gewebes bezogen werden.

5. Durch die Zerstörung des Kartoffelgewebes durch Zerreiben oder Erfrieren kommt es mithin zu einem erheblichen Verlust an osmotischer Energie. Der verbleibende Betrag entspricht offenbar der Konzentration gelöster Substanzen, wie sie im Preßsaft vorliegt. Der verlorengegangene Betrag, der nicht durch gelöste Substanzen bedingt sein kann, betrug in den von uns durchgerechneten Beispielen unter Berücksichtigung der in den beiden Phasen des lebenden Gewebes gebundenen relativen Wassermengen etwas mehr als 50% der gesamten osmotischen Energie des lebenden Gewebes.

Literatur.

- ¹ CARRICK, D. B.: Cornell University Agr. Exp. Station, Memoir 131. —
² LUYET, B. I., and P. M. GEHENIO: *Biodynamica* (Normandy) **1**, 30 (1931). —
³ LUYET, B. I., and E. L. HODAPP: *Protoplasma* (Wien) **30**, 254 (1938). —
⁴ MAXIMOW, N. A.: *Jb. Bot.* **53**, 321 (1914). — ⁵ MÜLLER-THURGAU, H.: *Landw. Jb.* **15**, 453 (1886). — ⁶ OPIE, E. L.: *T. Exptl. Med.* **89**, 185 (1949). — ⁷ OPIE, E. L.: *T. Exptl. Med.* **91**, 285 (1950). — ⁸ OPIE, E. L., and M. B. ROTHBARD: *Arch. of Path.* **50**, 800 (1950). — ⁹ PICHOTKA, J.: *Habilitationsschrift*, Freiburg 1950. —
¹⁰ PICHOTKA, J., W. HÖFLER u. I. REISSNER: *Im Druck*. — ¹¹ PICHOTKA, J., u. W. HÖFLER: *In Vorbereitung*. — ¹² ROBINSON, J. R.: *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **137**, 378 (1950). — ¹³ STERN, J. R., L. V. EGGLESTON, R. HEMS and H. A. KREBS: *Biochemic. J.* **44**, 410 (1949). — ¹⁴ WALTER, H., u. O. WEISMANN: *Jb. Bot.* **82**, 273 (1935). — ¹⁵ WRIGHT, R. C., and R. B. HARVEY: *U. S. Dept. Agr. Bull.* No 895, 1 (1921). — ¹⁶ ZACHAROWA, T. M.: *Jb. Bot.* **65**, 61 (1926).

Dozent Dr. J. PICHOTKA, Freiburg/Br., Physiol. Inst. d. Univ., Katharinenstr. 29/III.

Aus dem Institut für Pharmakologie u. Toxikologie der Humboldt-Universität zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. F. JUNG) und der Pharmakologischen Abteilung des Instituts für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Über Stoffwechselleistungen von roten Blutkörperchen.

II. Einfluß methämoglobinfreier Zellen auf die Methämoglobinrückbildung*.

Von

F. JUNG, H. MATTHIES und K. ONNEN.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Februar 1954.)

Die bei der Methämoglobinrückbildung beteiligten Mechanismen scheinen durch die eingehenden Untersuchungen des HEUBNERSCHEN Arbeitskreises (JUNG [1939], GELINSKI, KUNZ und vor allem M. KIESE [1944 und später]) wie einiger englischer und amerikanischer Arbeitsgruppen (H. R. GUTMANN, B. J. JANDORF u. O. BODANSKY, S. S. SPICER, CH. H. HANNA u. A. M. CLARK, Q. H. GIBSON) hinreichend geklärt. Bereits bei Versuchen an jugendlichen Blutzellen (Retikuloocyten), deren Stoffwechselleistungen wir mit denen von reifen Zellen vergleichen wollten, stießen wir jedoch auf Unstimmigkeiten (H. MATTHIES, F. JUNG u. K. ONNEN), die sich — wenigstens vorläufig — nur als Hemmeffekte der Rückbildung in den reifen Zellen durch die anwesenden jugendlichen Zellen deuten ließen. Dies ist ein nachdrücklicher Hinweis, daß man für die studierten Prozesse nicht das rote Blutkörperchen als isolierte Stoffwechseleinheit in einem Nährmedium ansehen darf, sondern daß sich zwischen den Zellen Vorgänge abspielen. Dies wurde bisher übersehen, obwohl eine sorgfältigere Analyse der Befunde von KIESE ähnliche Effekte erkennen läßt:

Während aus meinen früheren Versuchen (JUNG, 1939) zu entnehmen war, daß in vivo die Methämoglobinrückbildung von der absoluten Menge Methämoglobin im Blut abhängig ist, wurde von KIESE (2) auf Grund von Versuchen in vitro eine von der Methämoglobinkonzentration unabhängige konstante Rückbildungsgeschwindigkeit angenommen. Die Erklärung für diese Konstanz sucht KIESE in einer Absättigung der Fermentsysteme der roten Blutzellen beim Rückbildungsprozeß. Die Richtigkeit der uns aus einem formal mathematischen Grund unmöglich erscheinenden Versuchsergebnisse KIESES müssen wir nach einer Bestätigung durch andere Autoren und einer eigenen Kontrolle anerkennen: Bei einer Reihe von Substraten, vor allem *Glucose* (dagegen nicht Milchsäure) ist der Rückbildungsverlauf praktisch linear. Linearität setzt aber voraus, daß *alle* beteiligten Ferment-

* 1. Mitteilung: Dieses Archiv 221, 497—505 (1954).

systeme bis zum Ende der Reaktion gleichmäßig beteiligt bleiben. Da es ganz unwahrscheinlich ist, daß die Zellen alle primär denselben Ausgangsgehalt an Methämoglobin besitzen und genau dieselbe Aktivität ihrer rückbildenden Fermente haben, müssen einige Zellen vor den anderen ihr Methämoglobin rückgebildet haben. Da aber dann die Rückbildungsgeschwindigkeit nicht abnimmt, müssen diese Zellen weiterhin aktiv in den Prozeß eingeschaltet bleiben (vgl. hierzu JUNG, 1952). Auf das Ergebnis der Versuche in vivo wird unten noch eingegangen werden.

Das Zusammenwirken von methämoglobinhaltigen und methämoglobinfreien Zellen läßt sich in künstlichen Mischungen einfach studieren. Folgende Versuche mögen die Richtigkeit unserer theoretischen Ableitungen belegen.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden mit roten Blutzellen vom Menschen, Pferd und Kaninchen durchgeführt, die aus frischem, defibrinierten Blut durch 3maliges Zentrifugieren und Waschen mit 0,9% NaCl gewonnen wurden. Die Hb(3)-haltigen Zellen wurden durch Behandlung des Vollblutes mit 2,4% NaNO₂ hergestellt, die übrige Präparation war die gleiche wie bei den Hb(3)-freien Zellen. Die Zellsuspension für die Versuchsansätze wurden mit 0,9% NaCl hergestellt; ihre Konzentration betrug in allen Fällen $4,0 \times 10^9$ Zellen/ml. Die Rückbildung des Hb(3) wurde mit der manometrischen Methode nach WARBURG aus der Abnahme des CO im Reaktionsgefäß durch seine Bindung an das bei der Reduktion entstehende Hämoglobin (Hb[2]) bestimmt. Um eine meßbare Beeinflussung der Hb(3)-Reduktion in den Zellen zu erzielen, genügten uns die Zellmengen nicht, die in die üblichen Seitenbirnen der Reaktionsgefäße eingefüllt werden können. Wir ließen deshalb ein Doppelgefäß nebenstehender Bauart herstellen (Abb. 1).

Dieses Reaktionsgefäß erlaubt uns, Mischversuche durchzuführen, bei denen die Menge Hb(3)-freier Zellen genau so groß ist, wie die der Hb(3)-haltigen. Die Versuche verliefen meist so, daß sich im Gefäß A eine Suspension der rückbildenden Zellen befand, im Gefäß B eine Suspension der Hb(3)-freien Erythrocyten. In Kontrollen wurde die CO-Absorption der gleichen Mengen Hb(3)- und Hb(2)-Zellen getrennt gemessen. Nach dem Einstellen der Versuchstemperatur (37°) und dem Beginn einer gleichmäßigen Hb(3)-Reduktion (nach etwa 20–30 min) wurden die Zellen der beiden Gefäße durch mehrmaliges Kippen gemischt. — Unsere ersten Versuche wurden unter Verwendung von Glucose als Stoffwechselsubstrat durchgeführt. Hier wird zunächst nur über Ergebnisse in Abwesenheit jeglicher Substrate berichtet, da dann die quantitativen Ergebnisse einfacher deutbar sind.



Abb. 1.

Reaktionsgefäß. Die Einsätze und Seitenbirnen wurden bei diesen Versuchen nicht benötigt.

Ergebnisse.

a) Abb. 2 gibt einen typischen Versuch an Kaninchenzellen wieder. Es wurden gleiche Mengen von Zellen desselben Tieres verwandt und beide Zellsorten nach einer kurzen Anlaufperiode zusammengemischt.

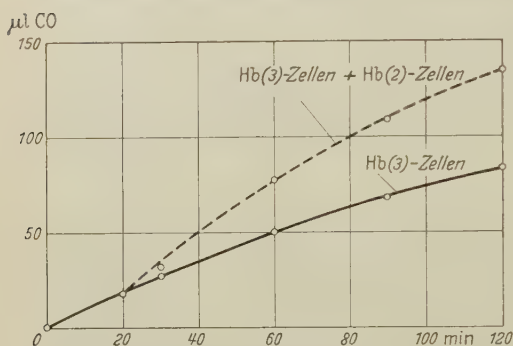


Abb. 2. Beeinflussung der Hb(3)-Reduktion in roten Blutzellen durch Hb(3)-freie Blutzellen. Kaninchenblutzellen, 4×10^8 Zellen/ml. Gefäß A: Hb(3)-Zellen (mit NaNO_2 vorbehandelt). Gefäß B: Hb(2)-Zellen. Mischung 20 min nach Versuchsbeginn. In jedem Gefäß je 3,0 ml der Zellsuspension. *Kein Substrat.* Abszisse: Zeit in Minuten.

Ordinate: Aufgenommenes CO als Maß für die Rückbildung des Hb(3).

Die Abbildung zeigt den postulierten Effekt wohl deutlich. In der folgenden Tabelle ist eine Serie von Versuchen zusammengestellt (Anordnung wie Abb. 2).

Praktisch heißt dies somit, daß die Zugabe von normalen Zellen zu methämoglobinführenden Zellen zu einer Rückbildungsbeschleunigung führt, die bei gleichen Mengen beider Zellsorten bis zu 100% betragen kann. Die zugegebenen normalen Zellen schalten sich also mit genau derselben Intensität in die Methämoglobinerückbildung

ihrer veränderten Nachbarzellen ein, als wenn sie selbst Methämoglobin enthalten würden.

Um dies noch genauer festzuhalten, wurde die Zahl der methämoglobinführenden Zellen konstant gehalten und die Zahl der zugegebenen normalen Zellen variiert. Das Volumen des Ansatzes wurde konstant gehalten, da uns einige Parallelversuche gezeigt hatten, daß dieses (d.h.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	Hb(3) — Kontrolle $\mu\text{l CO in 90 min}$	Hb(3) + Hb(2) $\mu\text{l CO in 90 min}$	Beschleunigung %
M 1	65	125	90
M 2	60	128	110
M 3	59	112	90
M 4	63	127	100
M 5	60	128	110

die Zellkonzentration) nicht ohne Einfluß auf die Rückbildungsgeschwindigkeit ist. Abb. 3 demonstriert das Ergebnis in einem Versuch, in dem normale Kaninchenzellen zu methämoglobinführenden Pferdezellen gegeben wurden. Die Beschleunigung der Methämoglobinreduktion in den Pferdezellen ist praktisch der zugegebenen Zellzahl proportional.

In einem weiteren Versuch wurde im Ansatz jeweils *dieselbe* Zellzahl an Kaninchenzellen gehalten, jedoch der *Anteil* an methämoglobin-führenden Zellen variiert. Dabei blieb die Rückbildungsgeschwindigkeit praktisch konstant. Auf Wiedergabe wird verzichtet. Dieser Versuch entspricht in der Technik praktisch den üblichen Rückbildungsversuchen, bei denen man während des Versuchsablaufs in den einzelnen Zellen verschiedene Mengen Methämoglobin haben dürfte und trotzdem die Rückbildungsgeschwindigkeit konstant bleibt.

Der in Abb. 2 wiedergegebene Grundversuch läßt sich in verschiedener Weise variieren. Werden sehr große Mengen normaler Zellen zugegeben, so steigt die Rückbildungsgeschwindigkeit nicht mehr proportional an.

b) Bereits der in Abb. 3 wiedergegebene Versuch zeigt, daß sich der Effekt nicht nur auf das Blut einer Tierart beschränkt, sondern auch an Zellen anderer Tiere deutlich wird. Im einzelnen möge dies Abb. 4 belegen. Es wurden jeweils gleiche Zellzahlen miteinander kombiniert.

Rechnet man die Ergebnisse eines solchen Versuchs unter einigen Vereinfachungen um, so erhält man die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Ergebnisse:

Tabelle 2.

Hb(3) — Zellen Art	Kontrolle μl in 90 min	+ menschl. Hb(2)		+ Kaninchen Hb(2)	
		μl in 90 min	% +	μl in 90 min	% +
Mensch	44	60	36,4	85	93,0
Kaninchen . . .	101	143	42,6	191	89,0

Es ergibt sich, daß die stärkste beschleunigende Aktivität die Zellen des Kaninchens haben, wesentlich schwächer wirksam sind die des Pferdes und des Menschen. Relativ am stärksten werden durch Kaninchenzellen die Zellen des Pferdes, etwa gleich stark die des Kaninchens und Menschen aktiviert.

Durch eingehendere derartige Versuche hoffen wir einen gewissen Einblick in die beteiligten Fermentsysteme zu gewinnen, da die Ausbildung derselben bei den Zellen verschiedener Tiere außerordentlich variiert.

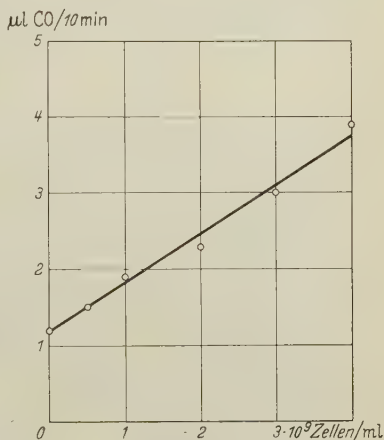


Abb. 3. Rückbildung des Hb(3) in Pferdeblutzellen unter dem Einfluß verschiedener Mengen normaler Kaninchenzellen. Abszisse: Zugesezte Menge an Kaninchenzellen in 10^9 Zellen/ml. Ordinate:

Rückbildungsgeschwindigkeit als $\frac{\mu\text{l CO}}{10 \text{ min}}$ angegeben.

c) In einem weiteren Versuch wurde ein Kaninchen durch mehrfaches Ausbluten zur Bildung zahlreicher Retikuloeyten veranlaßt. Wir haben früher berichtet, daß das Blut derartiger Tiere eine erhöhte

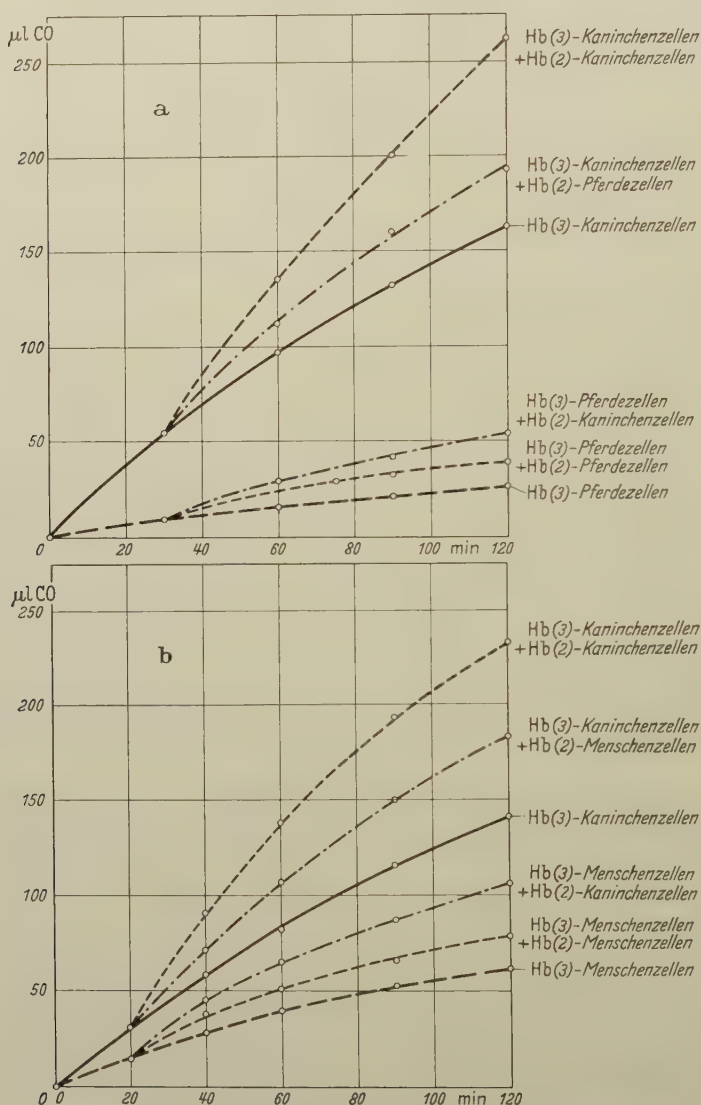


Abb. 4. Anordnung wie Abb. 2, aber 4,0 ml Zellsuspension in jedem Gefäß. Kombination der Zellen verschiedener Tierarten.

- a) Kaninchenzellen + Pferdezellen dick ausgezeichnet: reine Hb(3)-Zellen
 b) Kaninchenzellen + Menschenzellen dünn ausgezeichnet: Mischung von Hb(2)-Zellen mit Hb(3)-Zellen.

Fähigkeit zur Methämoglobinreduktion in Gegenwart von Zucker oder bei Substratabwesenheit besitzt. Überraschenderweise war die Fähigkeit des retikulocytenreichen Bluts zur Steigerung der Hb(3)-Rückbildung bei Mischung normaler und methämoglobinhaltiger Zellen nicht vermehrt, sondern eher etwas reduziert. Auch von hier aus läßt sich ein Hinweis auf den Wirkungsmechanismus unseres Stoffwechseleffektes gewinnen.

Diskussion.

1. In einer Blutprobe, die aus methämoglobinhaltigen Zellen und normalen Zellen zusammengesetzt ist, beteiligen sich auf Grund unserer Versuche alle Zellen relativ gleichmäßig an der Methämoglobinreduktion. Die für die Reduktion notwendige Energie bzw. die notwendigen Reduktionsvalenzen müssen somit auf irgendeinem Weg von Zelle zu Zelle weitergegeben werden. Daß durch die Zellmembran hindurch — ohne Diffusion des Oxydationsmittels — solche Vermittlungen möglich sind, hat STRAUB gezeigt: ATP kann innerhalb der roten Blutzelle gebildet werden, wobei gleichzeitig außerhalb der Zelle befindliches Ferricyankali reduziert wird. In unserem Versuch sind die Diffusionswege jedoch größer, so daß an ein diffundierendes Reduktionsmittel gedacht werden muß. Es wird notwendig sein, durch systematische Versuche den von Zelle zu Zelle diffundierenden aktiven Metaboliten zu suchen.

Aus der Tatsache, daß die zur Atmung befähigten Retikulocyten den Effekt nicht so ausgesprochen erzeugen dürften, sowie aus dem Verhalten der Pferdeerythrocyten, deren Rückbildungsvermögen sehr empfindlich auf Milchsäure reagiert, könnte man einen Hinweis auf eine Beteiligung der Milchsäure bei dem von uns beschriebenen Vorgang entnehmen. Andererseits könnte auch an diffusible SH-Gruppen tragende Verbindungen gedacht werden. In einigen orientierenden Versuchen haben wir gesehen, daß im Suspensionsmedium normaler und 1 Std bei 37° bebrüteter Zellen eine aktive Substanz enthalten ist. Jedoch ist deren Menge klein. Man muß aus diesem und anderen Gründen annehmen, daß sie von normalen Zellen nur dann laufend und in größerer Menge produziert wird, wenn sie sofort wieder entfernt wird. Die Identität der Rückbildungskapazität der normalen und methämoglobinführenden Zellen ist ferner ein Hinweis, daß diese Substanz auch bei der eigenen Rückbildung durch die methämoglobinbildenden Zellen beteiligt ist und zudem ihre Bildung der geschwindigkeitsbestimmende Prozeß bei der Methämoglobinreduktion sein dürfte. Auch in stromafreiem Hämolysat normaler Zellen haben wir reichlich aktives Produkt gefunden. Allerdings wissen wir nicht, ob man einfach jede — die Rückbildung in den Zellen fördernde und aus roten Blutzellen isolierbare — Substanz mit unserem rätselhaften Metaboliten zusammenbringen darf.

2. Unser Versuch ist ein nachhaltiger Hinweis, daß man die in vitro feststellbare Methämoglobinrückbildung nicht ohne weiteres auf den Vorgang in vivo beziehen darf. Ebenso wie die normale rote Blutzelle sich in diesen Prozeß innerhalb der krankhaft veränderten Blutzelle einschaltet, dürfte dies für jede Uferzelle des Kreislaufsystems gelten. Damit wird uns verständlich, daß man die in vitro beobachteten Gesetzmäßigkeiten für die Methämoglobinrückbildung nur mit äußerster Vorsicht auf die Vorgänge in vivo übertragen darf — wenn dies überhaupt erlaubt erscheint. Nicht nur über die Substratlieferung (etwa Glucose oder Milchsäure) hinweg, sondern auch über Stoffwechselzwischenprodukte dürften die Stoffwechsel aller mehr oder minder benachbarten Zellen aneinander gekoppelt sein. — Wir vermuten, daß das von uns beobachtete Beispiel nur als Modell für eine allgemeinere Gesetzmäßigkeit zu betrachten ist.

3. Da mit unseren Versuchen die Frage der Beteiligung der übrigen Gewebe bei der Vergiftung mit Methämoglobinbildnern wieder sehr akut wird, soll hier bereits auf ein über ähnliche Effekte deutbares Phänomen hingewiesen werden: die sogenannte Plateaubildung bei Vergiftung mit methämoglobinbildenden Giften (etwa Anilin). Wird — mit fortschreitender Verschlechterung der Sauerstoffversorgung — bei einer solchen Vergiftung der Gewebsstoffwechsel im Sinne einer fortschreitenden Anaerobiose modifiziert, so ist denkbar, daß nunmehr anfallende andersartige Stoffwechselprodukte die Rückbildung des Methämoglobins modifizieren bzw. beschleunigen. Damit wäre das sogenannte Plateau als eine besondere Form des biologischen Fließgleichgewichtes erklärt, indem mit fortschreitender Vergiftung auch die Rückbildungsgeschwindigkeit zunimmt — solange, bis beide Prozesse sich die Waage halten. Übrigens könnte über solche Vorgänge die eingangs berichtete Divergenz unserer Befunde in vivo gegenüber den Ergebnissen in vitro eine einfache und einleuchtende Klärung finden (vgl. auch SAKURAI).

Zusammenfassung.

1. Die Methämoglobinrückbildung in den roten Blutkörperchen ist nicht isoliert in der einzelnen Zelle ablaufender Prozeß, sondern eine kollektive Leistung der gesamten Blutprobe, an der sich die unveränderten Blutzellen in gleicher Weise beteiligen wie die methämoglobinführenden Zellen.

2. Der Effekt ist auch zwischen Blutzellen verschiedener Tierarten möglich.

3. Der Effekt ist bei Retikuloeyten vermutlich vermindert.

4. Einige für den Mechanismus der Methämoglobinrückbildung in vitro und in vivo wichtige Folgerungen aus diesen Befunden werden

diskutiert. Sie vermögen unter anderem zu einer Erklärung der Plateaubildung bei Vergiftungen mit aromatischen Nitro- und Aminoverbindungen beizutragen.

5. Es wird vermutet, daß man einer Stoffwechselkopplung von benachbarten Zellen über diffusible Stoffwechselzwischenprodukte hinweg bisher ganz allgemein zu wenig Beachtung geschenkt hat.

Literatur.

GELINSKI, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **195**, 460 (1940). — GIBSON Q. H.: Biochemic. J. **42**, 13 (1948). — GUTMANN, H. R., B. J. JANDORF u. O. BODANSKY: J. of Biol. Chem. **169**, 145 (1947). — HEUBNER, W., u. MÖBUS: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 223. — JUNG, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **192**, 464 (1939). — KIESE, M.: (1) Biochem. Z. **316**, 264 (1944). — (2) Klin. Wschr. **1946**, 81. — (3) Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **204**, 288 (1947). — KIESE, M., u. W. SCHWARTZKOPFF: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **204**, 267 (1947). — KUNZ, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **199**, 508 (1942). — MATTHIES, H., F. JUNG u. K. ONNEN: Dtsch. Gesundheitswesen **8**, 1562 (1953). — SAKURAI: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **107**, 287 (1925). — SCHWEDTKE: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **188**, 121 (1938). — SPICER, S. S., CH. H. HANNA u. A. M. CLARK: J. of Biol. Chem. **177**, 217 (1949). — SZÉKELY, M., S. MANYAI u. F. B. STRAUB: Acta physiol. (Budapest) **4**, 3 (1953).

Prof. Dr. F. JUNG,

Berlin NW 7, Inst. für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt-Universität.

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. W. LAVES).

Antagonistische Wirkungen von Alkohol und Cortison auf die Eosinophilenzahl des peripheren Blutes*.

Von
W. LAVES.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Februar 1954.)

Gelegentlich von Untersuchungen über das Verhalten der Leukozyten im peripheren Blute nach Alkoholgenuß fiel bei einer Reihe von Personen eine Eosinophilenvermehrung auf. Da diese Beobachtung auf eine „Anti-Stress-Wirkung“ des Äthanols hinwies, wurde sie näher untersucht, worüber nachfolgend berichtet wird.

Untersuchungsverfahren.

Zur Untersuchung kamen 56 gesunde Männer im Alter zwischen 16 und 65 Jahren. 44 Personen waren über 25 Jahre alt. Die Veranlassung der Untersuchungen bildete die Prüfung der Alkoholverträglichkeit bei Blutalkoholkonzentrationen zwischen 0,5 und 2,5¹⁰/₀₀. Es ist wichtig, anzuführen, daß jeder der Männer wußte, daß er sich in einer Prüfsituation befand. Subjektiv bestand also durchaus das Bestreben, Berausungserscheinungen möglichst weitgehend zu unterdrücken.

Diese Personen waren aufgefordert worden, vor dem Untersuchungstage keinen Alkohol zu genießen. Die Untersuchungen begannen stets vormittags gegen 9 Uhr und dauerten bis 17 Uhr. Vor und in halb- bzw. einstündigen Abständen bis zu 7 Std. nach Versuchsbeginn wurden mittels Venülen aus den Armvenen Blutproben zur Blutalkoholbestimmung entnommen. Zur Zählung der Gesamtleukozyten sowie der Eosinophilen dienten Blutproben aus den Ohrläppchen.

Technik der Untersuchung: WIDMARK-Verfahren und ADH-Methode nach BÜCHER und DOTZAUER. Das Enzym ADH und der Akzeptor DPN wurden von der Firma Boehringer, Mannheim, bezogen. Alle Untersuchungen erfolgten mit mehrfachen Kontrollen. Die Zählung der Gesamtleukozyten erfolgte in üblicher Weise, die Zählung der Eosinophilen nach den Angaben von THORN.

Befunde.

1. Von der Gesamtzahl der untersuchten Personen erhielten 42 Männer nach den Blutentnahmen vor Versuchsbeginn Alkohol (Weinbrand) in Mengen, welche Blutalkoholkonzentrationen bis 1⁰/₀₀ oder bis 2⁰/₀₀ zur Folge hatten. Die Mehrzahl der Männer war alkoholgewöhnt.

Zur statistischen Auswertung aller Versuchsergebnisse wurden sämtliche Eosinophilenzahlen (EZ) des peripheren Blutes, die bei den einzelnen Blutentnahmen bis 7 Std. nach Versuchsbeginn bestimmt worden waren,

* Diese Mitteilung ist Herrn Hofrat Prof. Dr. O. LOEWI in Verehrung gewidmet.

in % der Ausgangswerte der EZ vor Versuchsbeginn berechnet. Es ergab sich, daß die Zahl dieser Zellen im Mittel aller Versuche etwa gleichzeitig mit der Resorption des Alkohols bis zu 17% zunahm. Während aber die Blutalkoholkonzentration (BAK) $1\frac{1}{2}$ —2 Std nach Alkoholgenuß in die Abbauphase übergang, blieb die EZ noch mehr als 7 Std auf einem erhöhten Niveau.

Von diesen Mittelwerten wich jedoch die Eosinophilenbewegung bei einzelnen Personen wiederholt beträchtlich ab. So verhielten sich die EZ zuweilen gegenüber dem Ausgangswert indifferent, oder es kam sogar zu einer geringen Abnahme.

Es wurde daher versucht, den Ursachen dieser Abweichungen nachzugehen. Signifikante Beziehungen zwischen dem Körpergewicht und dem Alter der Untersuchten waren nicht nachweisbar. Auch fehlten sichere Zusammenhänge zwischen Alkoholgewöhnung und dem Verhalten der EZ. Dagegen fiel sehr bald auf, daß konstitutionellen Einflüssen Bedeutung zukam. So zeigten 15 Personen (mit überwiegend) *leptosomen* Körperbau nach Alkoholgenuß durchwegs eine Eosinophilenzunahme. Das Ausmaß derselben war abhängig von der Menge des genossenen Alkohols. Die Vermehrung der EZ war um so intensiver, je höher die erreichte BAK lag. Jedoch traten auch nach Alkoholgaben, welche eine maximale BAK von weniger als $1\frac{1}{100}$ zur Folge hatten, Vermehrungen der peripheren EZ bis zu 60% auf. Das Maximum wurde im Mittel nach 2 Std erreicht, dann erfolgte wiederum eine Abnahme der EZ (Abb. 1).

Wesentlich anders verhielten sich Personen mit überwiegend *athletischem* bzw. *pyknischem* Habitus. So kam es bei 23 *athletischen* Männern

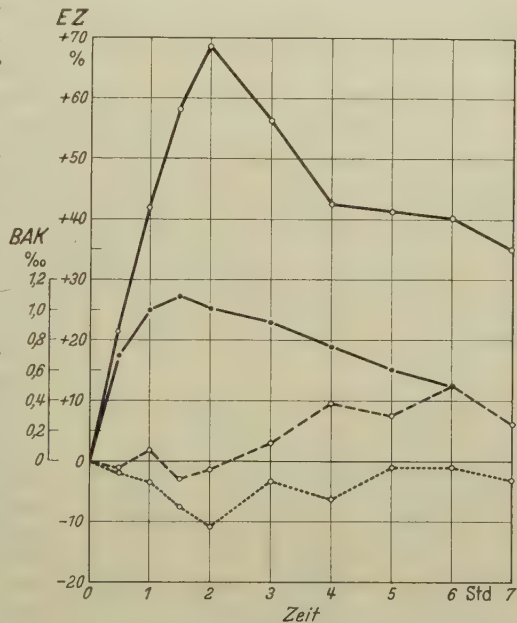


Abb. 1. Das Verhalten der Eosinophilenzahlen (EZ) des peripheren Blutes nach Alkoholgenuß in Prozent der Werte vor Versuchsbeginn

- bei Männern mit überwiegend leptosomem Körperbau,
- - - - - bei Männern mit überwiegend athletischem Körperbau,
-○ bei Männern mit überwiegend pyknischem Körperbau.
- Die mittlere Blutalkoholkurve der Versuche.

nur während der Alkoholresorptionsphase zu einer geringgradigen Eosinophilenvermehrung, die zunächst wieder rasch abklang und nach 3 Std neuerlich einsetzte, um längere Zeit bestehen zu bleiben.

Bei 4 typischen *Pyknikern* kam es bereits 1 Std nach Versuchsbeginn zu einem leichten Eosinophilensturz, dessen Verlauf und Dauer einer abgeschwächten Stressreaktion entsprach.

In der Abb. 1 wurden die mittlere Blutalkoholkurve und die Mittelwerte der Eosinophilenbewegung in der Gruppe der Leptosomen, der der Pykniker und Athletiker eingetragen.

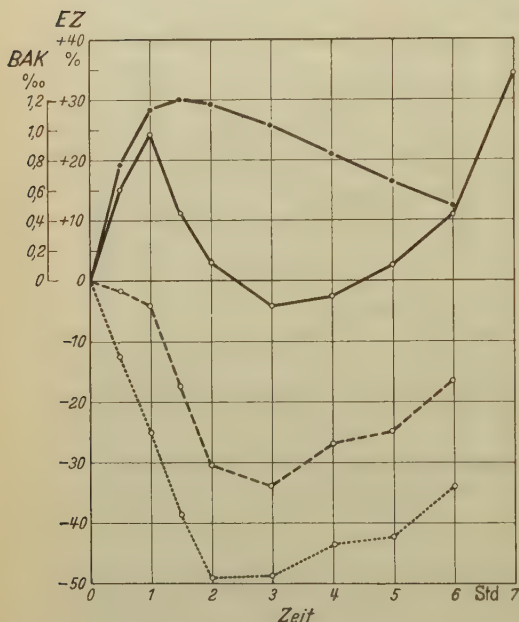


Abb. 2. Das Verhalten der Eosinophilenzahlen (EZ) des peripheren Blutes nach Verabfolgung von je 25 mg Cortison oral und Alkohol.

- bei Männern mit überwiegend leptosomem Körperbau,
- - -○- - bei Männern mit überwiegend athletischem Körperbau,
- · · · ·○· · · bei Männern mit überwiegend pyknischem Körperbau.
- Mittlere Blutalkoholkurve der Versuche.

Die Kurven zeigen eindeutig, daß in der Reaktion der peripheren EZ auf Alkohol signifikante konstitutionsbeeinflusste Unterschiede bestehen.

2. Mit Hilfe anderer Verfahren war von W. LAVES (1952, 1953) auf die geringe Äthanolempfindlichkeit der Pykniker, bzw. von TINTERA und LOVELL auf die erhöhte Empfindlichkeit der Astheniker hingewiesen worden. TINTERA und LOVELL haben ein konstitutionelles Syndrom mit geringer Alkoholtoleranz beschrieben, das Personen von asthenischen Habitus, Hypotension, Hypoglykämie und niedriger 17-ketosteroid und Androgen-Ausscheidung betrifft. Die anatomischen Grundlagen dieses als Hypoadrenocortizismus aufgefaßten Syndroms wurden von J. IM OBERSTEG an einem großen Material geprüft. Dieser Autor fand unter anderen, daß das Gewicht der Nebennieren bei Pyknikern und Athletikern im Mittel 14 g, bei Asthenikern dagegen im Mittel nur 9 g beträgt.

Da somit der Funktion der Nebennierenrinde für die Alkoholtoleranz bzw. das Verhalten der peripheren EZ nach Alkoholgenuß Bedeutung zukommt, wurden weitere Untersuchungen durchgeführt. Diese gingen von der Annahme aus, daß konstitutionelle Einflüsse auf die Bewegung der EZ noch stärker in Erscheinung treten müssen, wenn die Versuchspersonen gleichzeitig Alkohol und Cortison erhielten.

In Vorversuchen wurde jene Dosis eines oral verabfolgten Cortisonpräparates ermittelt, bei welcher stets eine Abnahme der EZ im peri-

peren Blute eintrat. Die Menge betrug im Durchschnitt 25 mg. Nach dieser Dosis nahm die EZ im Mittel um 65% des Ausgangswertes ab (Abb. 3).

In welcher Weise nun der durch jeweils orale Cortisongaben ausgelöste Eosinophilensturz im peripheren Blute durch Alkoholgenuß beeinflusst wird, wurde an 56 Personen geprüft. Dabei zeigte sich sehr bald, daß wiederum der Konstitution für die Bewegung der EZ besondere Bedeutung zukam (Abb. 2).

Bei 19 Männern mit überwiegend *leptosomen* Körperbau trat — nach einem anfänglich erheblichen Anstieg — im Verlaufe von 2 Std eine rasche Abnahme der EZ auf, die jedoch das Niveau der Ausgangswerte nur wenig unterschritt. Nach 6 bis 7 Std stiegen die EZ-Werte wieder an. Bei diesen Personen wurde also die Cortisonreaktion durch das Äthanol praktisch völlig unterdrückt, wenn auch die Form der Kurve noch einer in eine höhere Ebene verlagerten Stressreaktion entsprach.

Bei 31 Männern mit *athletischem* Körperbau betrug die Abnahme der EZ im Mittel nach 3 Std 34%. Der maximale Unterschied gegenüber der durch Cortison allein bedingten Eosinophilenreaktion betrug 30%.

Bei 6 typischen *Pyknikern* erreichte die mittlere Abnahme der EZ nach 2 Std sogar 50% des Ausgangswertes.

In den beiden letztgenannten Personengruppen trat also nur eine Abschwächung des Cortison-bedingten Eosinophilensturzes durch Alkohol ein. Die Hemmung der Cortisonreaktion fiel bei jeweils gleichbleibender Cortisongabe um so intensiver aus, je größer die verabfolgten Alkoholmengen waren. Bei der Mehrzahl der Versuchspersonen wurden an 3 Versuchstagen das Verhalten der BAK und der EZ auf Alkohol allein, der EZ nach Cortisongaben allein und der EZ nach kombinierten Cortison-Alkohol-Gaben geprüft. Die so gewonnenen individuellen Kurven ließen

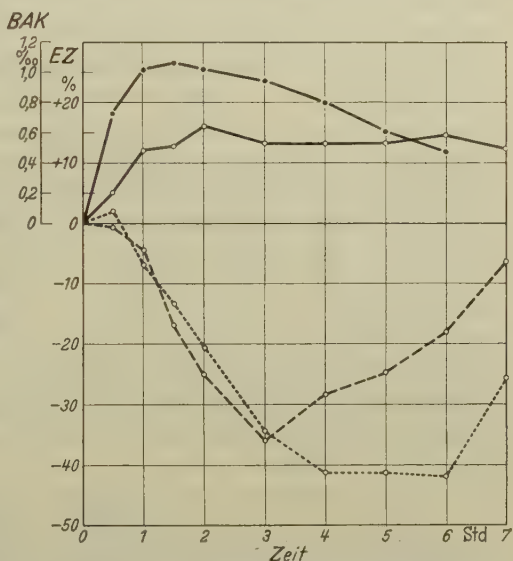


Abb. 3. Das Verhalten der Eosinophilenzahlen (EZ) des peripheren Blutes als Mittelwerte aller Versuche.
 ○—○ a) nach Alkoholgaben,
 ○····· b) nach Cortison (25 mg oral),
 ○····· c) nach Alkohol und Cortisongaben.
 ●—● Die mittlere Blutalkoholkurve aller Untersuchungen der Reihe a und c.

die hier als Mittelwerte von Personengruppen beschriebenen Verhältnisse vielfach noch charakteristischer erkennen.

In der Abb. 3 wurden abschließend die Mittelwerte aus den Versuchsreihen einander gegenübergestellt. Es handelt sich um die mittlere BAK-Kurve, die Mittelwerte der EZ des peripheren Blutes nach Alkoholgaben allein und nach kombinierter Äthanol- und Cortison-Verabfolgung.

Zusammenfassung.

Es wird nachgewiesen, daß in erster Linie bei gesunden Männern mit überwiegend asthenischem Körperbau nach Alkoholgenuß eine Vermehrung der EZ im peripheren Blute eintritt.

Andererseits wird der bei Gesunden durch Cortison allein auslösbare Eosinophilensturz durch gleichzeitige Alkoholgaben gehemmt.

Für das Ausmaß der Eosinophilendepression spielen neben der verabfolgten Alkoholmenge konstitutionelle Einflüsse eine besondere Rolle. Die Cortison-bedingte Abnahme der EZ wird bei Pyknikern und Athletikern durch Alkohol in Dosen, welche eine BAK von weniger als 2⁰/₀₀ zur Folge haben, abgeschwächt, bei Asthenikern dagegen praktisch völlig unterdrückt.

Somit besteht zwischen Alkohol und Cortison ein Antagonismus in der Beeinflussung der Eosinophilenzahlen des peripheren Blutes.

Es ist mir eine Verpflichtung, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die gewährte Unterstützung bei den Untersuchungen und der Firma Ciba, Basel, für die Überlassung von Cortison zu danken.

Literatur.

LAVES, W.: Über Unterschiede in der individuellen Alkoholverträglichkeit und deren Ursachen. Beitr. gerichtl. Med. **19**, 86 (1952). — Cortison-Test zur Prüfung der Kompensationsfähigkeit für Alkohol. Experimentia (Basel) **9**, 429 (1953). — IM OBERSTEG, J.: Über Beziehungen des Körperbautypus zu Gewicht und Maße innerer Organe. Acta genet. et statist. med. (Basel) **193** (1952). — TINTERA, A., and H. LOVELL: Dig. Neurol. Psychiatr., Hartford **17**, 521 (1949).

Prof. Dr. med. W. LAVES, München 15, Frauenlobstr. 7,
Inst. f. ger. Med. d. Univ.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. L. HEILMEYER).

Über die Wirkung von Kobaltchlorid auf den Blutzucker und die Pankreasinseln bei verschiedenen Nagetieren.

Von

WERNER CREUTZFELDT und WALTRAUD SCHMIDT.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1954.)

Einleitung.

Von den die LANGERHANSschen Inseln von Mensch und Tier zusammensetzenden Zellen (vgl. BARGMANN, 1939) produzieren die etwa 80% ausmachenden B-Zellen das Insulin, wie insbesondere durch den Alloxan-diabetes bewiesen wurde. Die restlichen Zellen (A-Zellen) galten zunächst als ruhende oder unreife Inselzellen (HINTEREGGER, 1931, FERNER, 1942). BENSLEY u. WÖRNER (1939) schrieben ihnen dagegen die Produktion eines Fettstoffwechselhormons zu, fanden jedoch keine Anhänger ihrer These. Ihre Selbständigkeit wurde später auf Grund von Alloxanexperimenten wieder gefordert (vgl. BARGMANN u. CREUTZFELDT, 1949, CREUTZFELDT, 1949 und 1950). Vor allem durch die Arbeiten von BÜRGER ist seit mehr als 25 Jahren bekannt, daß im Pankreas noch ein zweites Hormon, das sogenannte Glucagon (hyperglycemic glycogenolytic (HG) Factor der angloamerikanischen Literatur) gebildet wird. Die Untersuchungen von SUTHERLAND u. DE DUVE (1948) sowie GAEDE u. FERNER (1950) haben nun ergeben, daß das Glucagon wahrscheinlich von den A-Zellen der Inseln gebildet wird. Es konnte inzwischen in kristalliner Form dargestellt werden (STAUB, SINN u. BEHRENS, 1953).

Trotz zahlreicher Experimente ist die Rolle dieses Hormons unter physiologischen und pathologischen Bedingungen jedoch noch nicht ausreichend geklärt. Während BÜRGER (1947) der Meinung ist, daß es durch Bereitstellung von Glucose zur Verbrennung in der Peripherie mit dem Insulin synergistisch wirkt, sieht FERNER (1951) in ihm den eigentlichen Antagonisten des Insulin. Nach FERNER beruht sogar der menschliche Diabetes mellitus in erster Linie auf einem Überwiegen des Glucagonsystems und erst in zweiter Linie auf einer Insuffizienz des Insulinsystems.

Die Hauptstütze dieser Hypothese war der Befund einer regelmäßigen und signifikanten Zunahme der ausschließlich mit Hilfe der GROS-SCHULTZE-Versilberung dargestellten A-Zellen („Silberzellen“) bei menschlichen Diabetikern (FERNER 1942, HESS 1946, TERBRÜGGEN 1948). Der GROS-SCHULTZE-Versilberung ist jedoch

jüngst der Wert einer elektiven Darstellungsmethode für die A-Zellen der Inseln abgesprochen worden (BURKL 1951, CREUTZFELDT 1952). Bei normalen und Diabetiker-Bauchspeicheldrüsen fand sich in gleicher Weise eine erhebliche Schwankung der Silberzellen, die am ehesten damit zu erklären ist, daß in bestimmten Funktionszuständen beim Menschen auch B-Zellen versilberbar werden (CREUTZFELDT 1953). Aus dieser Untersuchung ergibt sich, daß es zahlreiche Diabetesfälle ohne Silberzell- und damit A-Zellvermehrung gibt, daß sich aber möglicherweise unter den silberzellreichen Diabetikern eine Gruppe mit echter (relativer?) A-Zellvermehrung verbergen kann. Die von FERNER beschriebene regelmäßige A-Zellvermehrung konnte auch an gefärbten Pankreasschnitten nicht bestätigt werden, indem GOMORI (1952) bei über 50 Diabetikern in 60% eine normale Relation der A- und B-Zellen fand. Von klinischer Seite liegen noch keine schlüssigen Beweise für die Existenz eines Glucogonidiabetes beim Menschen vor.

Eine neue Möglichkeit zur Erforschung der Rolle des A-Zellensystems unter physiologischen Bedingungen ergab sich durch die Entdeckung, daß Kobaltchlorid beim Meerschweinchen elektiv die A-Zellen schädigt (VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS, 1951). Mehrere subcutane Injektionen dieser Substanz führen nach einigen Tagen zu Degranulation und zunehmender Vakuolisierung der A-Zellen. Ein hypoglykämischer Zustand trat jedoch nicht auf. Die Extraktion des Pankreas ergab eine Verminderung des HGF um 60% (VUYLSTEKE, CORNELIS u. DE DUVE, 1952, ESER u. TÜZÜNKAM, 1952). Bei intravenösen Gaben von Kobaltchlorid an Kaninchen beobachteten GOLDNER, VOLK u. LAZARUS (1952) eine initiale Hyperglykämie und bereits nach 1 Std A-Zelldegenerationen. Trotz vollständiger Zerstörung der A-Zellen wurden keine Hypoglykämien beobachtet. Außerdem sahen die Autoren keine Besserung des Alloxandiabetes beim Kaninchen durch Zerstörung der A-Zellen durch Kobaltchlorid (VOLK, LAZARUS u. GOLDNER, 1953), was von AVEZZU u. LUISE (1951) beschrieben worden war. Sie folgerten aus ihren Untersuchungen, daß die A-Zellen weder beim normalen Kaninchen für die Erhaltung des Blutzuckerspiegels eine Rolle spielen, noch beim Alloxandiabetes für die hohen Blutzuckerwerte verantwortlich sind, wie aus dem Blutzuckerabfall bei alloxandiabetischen Hunden nach Pankreat-ektomie (THOROGOD u. ZIMMERMANN, 1945) geschlossen worden war.

Wegen der teilweise widersprechenden Befunde und der weitgehenden Schlüsse, die trotzdem aus ihnen gezogen wurden, erschienen nochmalige Untersuchungen über die Wirkung des Kobaltchlorid auf die A-Zellen und den Blutzucker angezeigt. Von Interesse ist insbesondere ein Vergleich der Wirkung auf verschiedene Tiere, weshalb normale Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten, sowie alloxandiabetische Kaninchen zur Verwendung kamen. Besonderes Augenmerk sollte auch auf die Veränderung an anderen Organen gerichtet werden. Und schließlich lag es nahe, orientierende Untersuchungen über die Wirkung anderer Schwermetallsalze (Mangan, Eisen, Nickel) auf den Blutzucker und die Inseln anzustellen.

Untersuchungsgut und Methodik.

Von 38 450—550 g schweren, mit Grünfutter und Rüben ernährten *Meerschweinchen* dienten 6 Tiere als Kontrollen, während 32 Tiere täglich 10—30 mg CoCl_2 pro Analysisi in 3%iger wäßriger Lösung subcutan erhielten (die den Literaturangaben angepaßten Dosen sind Tab. 3 zu entnehmen). 7 Tiere starben und wurden ausgeschieden. Die restlichen wurden in verschiedenen Abständen getötet und sezirt. Blutzuckerbestimmung in 15 Fällen.

Von 14 150—170 g schweren, mit Körnern und Brot ernährten *Albinoratten* dienten 4 als Kontrollen. Von 3 mit 10 mg CoCl_2 in wäßriger Lösung subcutan injizierten Tiere starben 2. Das überlebende Tier erhielt am nächsten Tag nochmals 5 mg CoCl_2 und wurde am Abend getötet. 3 Ratten erhielten 2 Tage lang täglich 5 mg CoCl_2 subcutan und wurden am 3. Tag getötet und sezirt, weil sie sich in sehr schlechtem Zustand befanden. 4 weitere Tiere erhielten 5 Tage lang 2 mg CoCl_2 und wurden am nächsten Tag in mäßigem Zustand getötet und sezirt. Bei sämtlichen Versuchstieren wurde 7 Std lang nach jeder CoCl_2 -Injektion stündlich der Blutzucker sowie vor der Tötung der Nüchternblutzucker im Schwanzvenenblut bestimmt.

Von 18 2—2,5 kg schweren *Kaninchen* dienten 3 als Kontrolltiere, ein Tier starb eine Stunde nach 50 mg CoCl_2 in 10 cm³ physiologischer NaCl-Lösung i. v. 5 Tiere erhielten 30—60 mg CoCl_2 in physiologischer NaCl-Lösung i. v. ein- bis zweimal täglich über mehrere Tage. Nach den Injektionen wurde in den meisten Fällen der Blutzucker 5 Std lang stündlich bestimmt. Außerdem wurden vor Beginn und während der Versuche Insulinbelastungen mit $\frac{1}{4}$ E Altinsulin i. v. vorgenommen, wobei in viertelstündlichen Abständen 2 Std lang der Blutzucker bestimmt wurde. 2 Kaninchen erhielten 100—200 mg CoCl_2 täglich s. c. Ein Tier wurde 12 Std nach der 3. Injektion getötet, 1 Tier starb 6 Std nach der 5. Injektion und wurde sofort sezirt. Stündliche Blutzuckerkontrollen 7 Std lang nach jeder CoCl_2 -Injektion.

5 Kaninchen erhielten 200 mg/kg Alloxan* in nüchternem Zustand. Eine Stunde später durften sie fressen. Beim Auftreten von Schocksymptomen wurde Traubenzucker i. v. gespritzt. Nach Entwicklung des Alloxandiabetes schwankten die Nüchternblutzuckerwerte dieser Tiere zwischen 200 und 500 mg%. Sie wurden nicht insulinisiert. 4 dieser Kaninchen erhielten 2 mal 35 mg CoCl_2 i. v. Anschließend wurde das Verhalten des Blutzuckers verfolgt. Außerdem wurden Insulinbelastungen mit 4 E Altinsulin s. c. durchgeführt und dabei 5 Std lang stündlich der Blutzucker kontrolliert.

3 Kaninchen dienten lediglich zur Untersuchung der Blutzuckerwirkung kleinster CoCl_2 -Mengen (0,5—5 mg i. v. in 1 cm³ physiologischer pyrogenfreier NaCl-Lösung). Außerdem wurde die Wirkung von i. v.-Gaben von Ce-Ferro (Nordmark) (1—4 mg Fe^{++}), von FeSO_4 , MnCl_2 und NiCl_2 auf den Blutzucker geprüft. Blutzuckerbestimmung 15, 30, 60, 90, 120, 240 und 300 min nach der Injektion. Die Tiere wurden nicht getötet.

Weil durch NiCl_2 ähnliche Blutzuckeränderungen wie nach CoCl_2 beobachtet wurden, wurde diese Substanz in gleicher Dosierung wie CoCl_2 subcutan 4 Meerschweinchen und 4 Ratten gespritzt und Pankreas, Nebenniere und Leber dieser Tiere histologisch untersucht.

Blutzuckerbestimmung nach HAGEDORN-JENSEN. Tötung sämtlicher Tiere durch Nackenschlag. Nach der Sektion sofortige Fixierung von Pankreas, Nebenniere, Niere und Magen in BOUINScher Flüssigkeit und 10%igem Formol, Pankreas und Leber außerdem in CARNOYScher Flüssigkeit. 10 μ dicke Gefrierschnitte von

* Der Deutschen Hoffmann-La Roche A. G., Grenzach/Baden, danken wir für die freundliche Überlassung von Alloxan.

Pankreas, Nebenniere und Leber wurden mit Haematoxylin und Sudan III nach ROMEIS gefärbt, das übrige Material in Paraffin eingebettet. Schnittstärke 3—5 μ . Färbung: Haematoxylin-Eosin, Azan (M. HEIDENHAYN), Azanmodifikation nach GOMORI (1939), Chrom-Haematoxylin-Phloxin-Färbung (GOMORI 1941), Glykogenfärbung nach BEST. Mit der Azanfärbung nach GOMORI ist eine ausgezeichnete Inselzeldifferenzierung bei den untersuchten Tieren möglich. Die A-Zellen sind leuchtend rot granuliert, während die B-Zellen hell und ungranuliert erscheinen. Die β -Granula lassen sich an gewöhnlichen Azanpräparaten mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie gut beurteilen. Überhaupt erwies sich das Phasenkontrastverfahren als ausgezeichnete Methode zur sicheren Differenzierung der spezifisch gefärbten Inselzellen in allen zweifelhaften Fällen.

Bei sämtlichen Tieren wurde durch Auszählung von 3000 Inselzellen die Relation von A- zu B-Zellen ermittelt. (Kreuztisch, HI 100/Ok 8fach, wenn erforderlich unter Zuhilfenahme der Phasenkontrastoptik bei gleicher Vergrößerung.) Bei Auszählung von 3000 Inselzellen ist nach HULTQUIST u. Mitarbeiter (1948) die Fehlerbreite unter 2%. Es müssen sämtliche Inseln eines Schnittes gezählt werden.

Ergebnisse.

1. Allgemeinwirkung des CoCl_2 .

Über das Vergiftungsbild nach Zufuhr verschiedener Kobaltsalze ist von pharmakologischer Seite ausführlich berichtet worden. Eine Zusammenstellung findet sich bei HENDRYCH u. WEDEN (1934). Bei den hier benutzten Dosen, die so gewählt wurden, daß die Tiere möglichst bis zum Auftreten von histologischen Veränderungen zumindest einige Tage überlebten, fanden sich folgende Erscheinungen.

a) *Meerschweinchen*. Die von ESER u. TÜZÜNKAM (1952) zur vollständigen Zerstörung der A-Zellen angegebene Dosierung (1. Tag 3×30 mg, 2. Tag 4×30 mg CoCl_2 s. c.) führte bei 2 Tieren unter Krämpfen nach der letzten Injektion zum Tode. Wir benutzten daher in der Regel die von VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS angegebene tägliche Injektion von 20—30 mg CoCl_2 über mehrere Tage. Nach 20—30 mg beobachtet man nicht selten am ersten und zweiten Tag 15—30 min nach der subcutanen Injektion Krämpfe und Lähmungen, die jedoch nach kurzer Zeit wieder verschwinden. Etliche Tiere gingen jedoch am 3. oder 4. Tag an Krämpfen zugrunde. Bei sämtlichen Meerschweinchen trat in 2—4 Tagen eine Gewichtsabnahme von 10—20% auf. Die Tiere fraßen weniger und bekamen ein struppiges Fell.

b) *Ratten*. 10 mg CoCl_2 führte zu einem schockartigen Zustand mit Tachypnoe, dem 2 von 3 Tieren erlagen. Die Injektion von 5 mg CoCl_2 täglich überlebten 2 Tiere 3 Tage lang leidlich, sie wurden dann getötet. 1 Tier starb nach 2 Tagen. 2 mg CoCl_2 täglich wurde gut vertragen. Die Injektionsstellen waren jedoch infiltriert und schmerzhaft. Nach 6 Tagen waren die Tiere in einem reduzierten Allgemeinzustand. (10—20% Gewichtsverlust, struppiges Fell.)

c) *Kaninchen*. Die intravenöse Injektion von 30—60 mg führt bei den ersten Malen regelmäßig zu einem Schock. Die Tiere lassen einige Minuten nach der Injektion Urin und Kot unter sich, bekommen eine Tachypnoe, legen sich hin und sind apathisch. Die hinteren Extremitäten sind mehr oder weniger deutlich gelähmt. Ein Kaninchen starb 1 Std nach 50 mg CoCl_2 im Schock, wobei Durchfälle und eine auffällig langsame vertiefte Atmung zu beobachten waren. Bei wiederholten Injektionen werden die Reaktionen immer geringer. Die alloxandiabetischen Tiere reagierten in gleicher Weise. Auch die subcutanen Injektionen hoher CoCl_2 -Dosen (100—200 mg täglich) führt nach $\frac{1}{2}$ Std zu dem beschriebenen Vergiftungsbild. Eine Gewichtsabnahme wurde nur bei den häufig gespritzten Tieren beobachtet. So verlor 1 Tier, das in 13 Tagen 710 mg CoCl_2 intravenöserhielt, 20% an Gewicht und ein anderes, das in 10 Tagen 770 mg CoCl_2 intravenös erhielt, 15%. Dabei bestand unverminderter Appetit. Die beiden mit 100—200 mg CoCl_2 täglich injizierten Kaninchen fraßen kaum noch und nahmen 10% (in 3 Tagen) bzw. 15% (in 5 Tagen) an Gewicht ab.

Tabelle 1. *Nüchternblutzucker und Grad der A-Zellschädigung bei verschiedenen CoCl_2 -Versuchen an Meerschweinchen.*

Tier Nr.	CoCl_2 subcutan mg				Tag der Tötung nach Ver- suchsbeginn	A-Zell- schädigung	Nüchtern- blutzucker mg %
	1.	2.	3.	4. Tag			
M 1	3×30	4×30			2.	+	72
M 2	3×30	4×30			2.	(+)	68
M 4	30	30	30	30	5.	++	79
M 16	20	20	20		4.	++	127
M 17	20	20	20		4.	++	123
M 18	20	20	20		4.	++	101
M 19	20	20	20		4.	++	84
M 20	20	10	20		4.	++	96
M 14	20	20	20		10.	(+)	98
M 15	20	20	20		10.	(+)	112
M 24	20	10	10	15	20.	—	116
M 25	20	10	10	15	20.	—	110
M 278				Kontrolle			110
M 279				Kontrolle			105
M 280				Kontrolle			98

2. Blutzuckeränderungen durch CoCl_2 .

a) *Meerschweinchen*. Eine fortlaufende Blutzuckerbestimmung stößt bei diesen Tieren auf große Schwierigkeiten. Deshalb wurden bei 12 Versuchs- und 3 Kontrolltieren lediglich bei der Tötung die Nüchternblutzuckerwerte bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Man erkennt, daß keine deutlichen Blutzuckeränderungen auftreten, vor allem stehen sie in keinem Zusammenhang mit dem Ausmaß der A-Zellschädigung (siehe unten). Die niedrigsten Werte fanden sich bei den mehrmals täglich vergifteten Tieren, die jedoch nichts mehr gefressen haben.

b) *Ratten*. Bei den 8 mit CoCl_2 vergifteten Ratten konnte durch stündliche Entnahme aus dem Schwanzvenenblut das Verhalten des Blutzuckers über 7 Std verfolgt werden. Der Blutzucker erwies sich in allen Fällen als außerordentlich konstant (Abb. 1). Danach haben subcutane CoCl_2 -Gaben (1,3 bis 3,3 mg pro 100 g) keinerlei Wirkung auf den Blutzucker. Auch der Nüchternblutzucker dieser Tiere war vor der Tötung normal.



Abb. 1. Blutzuckerverhalten nach subcutanen CoCl_2 -Gaben bei Ratten (13—33 mg/kg, Durchschnittswerte aus 10 Versuchen) und Kaninchen (50—70 mg/kg, Durchschnittswerte aus 5 Versuchen).

mit einem deutlichen Blutzuckeranstieg (Abb. 1). Der Blutzucker erreicht bei intravenösen Injektionen nach $\frac{1}{2}$ Std bis 1 Std und nach subcutanen Injektionen nach 2—3 Std seinen Gipfel (160—180 mg%), und kehrt je nach Dosis und Applikationsart nach 2—5 Std wieder zur Norm zurück. Bemerkenswert ist, daß nach wiederholten CoCl_2 -Dosen (40 bis 60 mg) der Blutzuckeranstieg geringer wird. Er ist jedoch noch nach 10 täglichen Injektionen nachzuweisen. Offensichtlich findet eine Gewöhnung statt. Die Blutzuckeränderungen sind nun nicht nur bei den von VOLK, LAZARUS u. GOLDNER zur A-Zellzerstörung angegebenen hohen Dosen zu beobachten, sondern treten bereits bei kleinsten CoCl_2 -Gaben auf. Bei 0,25 mg/kg CoCl_2 intravenös war der Blutzuckeranstieg nicht sicher nachzuweisen. Bei 0,5 mg/kg trat nach 15 min regelmäßig eine leichte Blutzuckersteigerung von durchschnittlich 33 mg% auf, bei 2 mg/kg betrug sie im Durchschnitt 50 mg% (Abb. 2). Für die zahlreichen Versuche mit kleinen CoCl_2 -Injektionen wurden Kaninchen benutzt, die sich bei Leerversuchen (mit und ohne NaCl-Injektionen) als außerordentlich stabil in ihrem Blutzuckerverhalten erwiesen hatten. An den gleichen Tieren wurde die Blutzuckerwirkung verschiedener Schwermetalle ausgetestet (siehe unten). Die Blutzuckeränderung nach CoCl_2 -Gaben an alloxandiabetischen Kaninchen sind nicht charakteristisch, wie

c) *Kaninchen*. Diese Tiere reagieren regelmäßig auf CoCl_2 -Injektionen

die Tab. 2 zeigt. Der in einigen Fällen nach 2 und 3 Std erfolgte Blutzuckeranstieg dürfte wohl kaum auf die CoCl_2 -Injektion zurückzuführen sein, weil der Blutzuckerspiegel der alloxandiabetischen Kaninchen nicht sehr konstant ist, wie die Leerversuche an den gleichen Tieren zeigen.

Die bei sämtlichen normalen und alloxandiabetischen Kaninchen durchgeführten Insulinbelastungen ergaben vor und nach der CoCl_2 -

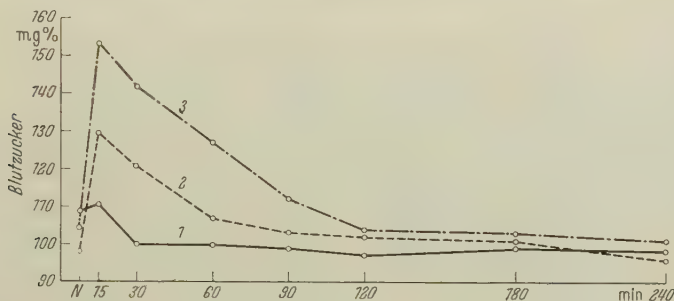


Abb. 2. Blutzuckerungsverhalten von Kaninchen nach intravenösen Gaben von 1 cm³ physiologischer NaCl-Lösung (1), 0,5 mg/kg CoCl_2 (2) und 2 mg/kg CoCl_2 (3) in 1 cm³ physiologischer NaCl-Lösung. 1 und 2 Durchschnittswerte aus 4 Versuchen, 3 Durchschnittswerte aus 6 Versuchen.

Injektion das gleiche Blutzuckerungsverhalten. Vor allem erfolgte der Wiederanstieg des Blutzuckers auch nach CoCl_2 -Injektion am Vortage in keinem Fall verzögert.

Tabelle 2. Blutzuckerungsverhalten nüchternen alloxandiabetischer Kaninchen mit und ohne intravenöse CoCl_2 -Gaben.

Nr. und Gewicht	Tag nach Alloxan-injektion	CoCl_2 i.v. mg	Blutzucker in mg ‰						
			N	30'	1	2	3	4	5 Std
K 359 (2,2 kg)	10.	40	310	310	301	282	324	331	329
	14.	—	442	—	550	454	476	458	396
	15.	40	414	—	442	450	434	288	260
K 2 (2,0 kg)	7.	35	356	—	349	298	394	382	346
	8.	—	368	—	416	350	360	332	326
	11.	35	288	—	314	408	392	252	241
K 3 (1,4 kg)	7.	25	398	—	382	326	436	425	398
	10.	—	438	—	566	450	464	386	372
	11.	30	396	—	418	522	460	276	270
K 4 (1,8 kg)	7.	30	378	—	384	342	484	472	429
	10.	—	464	—	546	404	360	334	342
	11.	35	350	—	364	450	366	262	253

3. Morphologische Veränderungen durch CoCl_2 .

a) *Meerschweinchen*. Das Ausmaß der Inselerschädigung ist nicht von der Dosis abhängig. Vielmehr scheint eine individuelle Empfindlichkeit der Tiere eine Rolle zu spielen. Daher erfolgt die Beschreibung nicht nach Versuchsgruppen getrennt, sondern summarisch. Die Entwicklung sichtbarer Veränderungen bedarf im Gegensatz zu den bekannten Alloxanschäden offensichtlich einer gewissen Zeit. So waren trotz

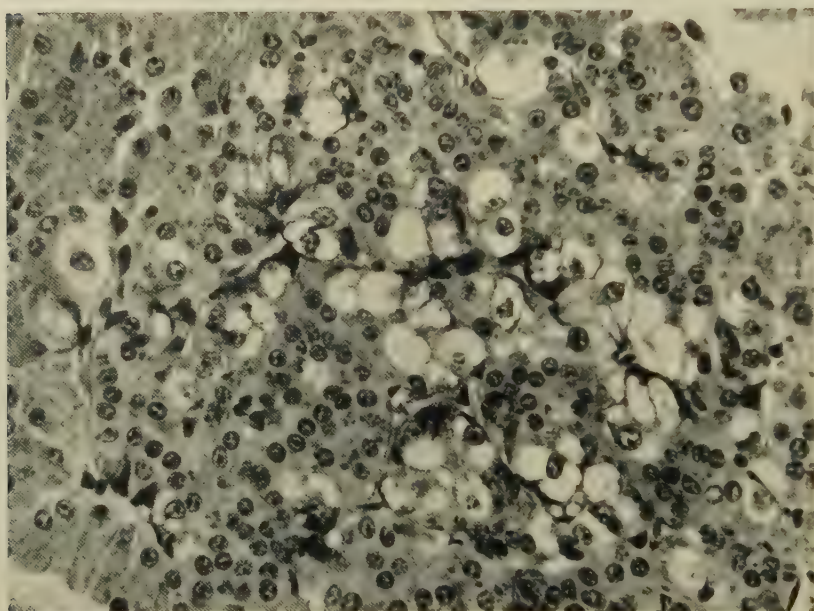


Abb. 3. LANGERHANSsche Insel eines Meerschweinchens, das 3 Tage täglich 20 mg CoCl_2 subcutan erhielt und am 4. Tage getötet wurde. Man erkennt die hochgradige Vakuolisierung und Degranulation nahezu sämtlicher A-Zellen (an den Capillaren gelegen). (MS 17, Bouin fix., 4 μ , Azan-Färbung nach GOMORI, Obj. Apoehr. 25/Optovar 1,6/Ok. 8fach, Leica.)

7maliger Injektion von 30 mg CoCl_2 nach 36 Std nur geringfügige Befunde zu erheben. Es fanden sich eine mäßige Degranulation und vereinzelt Vakuolisierungen der A-Zellen. Nach 3—4tägiger subcutaner Applikation von 20—30 mg CoCl_2 (bei schwerer Intoxikation Wiederholungs-dosis nur 10—15 mg) fanden sich regelmäßig erhebliche Inselveränderungen (Abb. 3). Diese sind in der Regel nicht in allen Inseln von gleicher Stärke, intakte Inseln findet man jedoch selten. Die Schädigung betrifft in erster Linie die A-Zellen, und zwar fast ausschließlich das Cytoplasma. Man erkennt eine mehr oder weniger ausgeprägte Abnahme der α -Granula, die dabei etwas gröber als gewöhnlich erscheinen. Dieser Degranulierung geht eine Schwellung der A-Zellen parallel. Sie werden deutlich

in den A-Zellen vorkommenden kleinen Vacuolen sind bei den vergifteten Tieren nicht zahlreicher. Auch eine Degranulation der A-Zellen hat nicht stattgefunden.

In den *Nebennieren* findet sich eine Entspeicherung der sudanophilen Substanzen, die in ihrem Ausmaß etwa der Dosis und der Schwere der Intoxikation parallel geht.

In der *Leber* besteht bei den stärker vergifteten Tieren eine diffuse feintropfige Verfettung, bei den kleineren Dosen sind die peripheren Lappenanteile klein- bis mitteltropfig verfettet. Der Glykogengehalt wechselt stark und ist uncharakteristisch.

In der *Magenschleimhaut* fanden sich keine Veränderungen. A-Zellen waren färbereich nicht nachweisbar.

c) *Kaninchen*. Eine Alteration der LANGERHANSschen Inseln war selbst bei hohen Dosierungen in keinem Fall nachzuweisen. A- und B-Zellen waren unverändert. Auch die Auszählung ergab keinen Hinweis auf einen Untergang von A-Zellen, weil sich die A-B-Zellenrelation nicht über die schon normalerweise schon ziemlich weite Streubreite hinaus verschiebt (Tab. 5) Lediglich bei den alloxandiabetischen Tieren war sie durch B-Zellenschwund charakteristischerweise zugunsten der A-Zellen verschoben. Die Granulation der Inselzellen war nicht wesentlich verändert. Makroskopisch fand sich eine bräunliche Verfärbung des gewöhnlich hellgelben Pankreas nur bei den beiden mit hohen subcutanen CoCl_2 -Dosen vergifteten Tieren und angedeutet auch bei beiden 11 bzw. 14 Tage lang ein- bis zweimal täglich intravenös gespritzten Kaninchen. Bei den gleichen Tieren fand sich auch eine unterschiedlich ausgeprägte Vacuolisierung von Acinus- und Schaltstückepithelien. Nur ein Teil dieser Vacuolen enthielt sudanophiles Material. Weder Vacuolisation noch Verfettung von Acinusepithelien wurde bei normalen Tieren beobachtet.

Das histologische Bild der *Nebennieren* war uncharakteristisch. Auch in der *Leber* fand sich keine auffällige Verfettung. Die sehr geringfügigen und von Fall zu Fall wechselnden diffusen Fettablagerungen können nicht als pathologisch angesprochen werden.

Bei den beiden, mit hohen subcutanen CoCl_2 -Dosen vergifteten Kaninchen fanden sich im Fundusgebiet des *Magens* Blutpunkte und Schleimhauterosionen, die teilweise mit schmutzigen Membranen bedeckt waren und bis zu 2 cm Durchmesser erreichten. Histologisch sah man an den weniger geschädigten Stellen erweiterte Drüsenkanäle sowie abgeflachte und zum Teil vacuolisierte Epithelien, an anderen Stellen Haemorrhagien und Abschilferungen des Epithels. Das Endstadium besteht in völliger Schleimhautzerstörung, an deren Stelle von Leukocyten durchsetzte Fibrinmembranen getreten sind. A-Zellen waren nicht auszumachen, zumal sich die Belegzellen mit den GOMORI-Färbungen leuchtend rot granuliert darstellen.

sich eine mäßige diffuse, außerordentlich feintropfige Verfettung. Dabei lagen die feinen Fetttropfen häufig am Zellrand. In einigen Fällen bestand eine klein- bis mitteltropfige periphere Verfettung. Der Glykogengehalt läßt sich an den nach BEST gefärbten Präparaten naturgemäß nur abschätzen. Bei den Kontrolltieren fand sich mäßig bis reichlich Glykogen, bei den mit CoCl_2 vergifteten und anschließend erhaltenen Tieren war die Leber nur einmal glykogenarm, sonst glykogenreich. Bei den akut vergifteten Tieren war oft nur spärlich Glykogen nachzuweisen. Immerhin zeichneten sich einige Tiere mit schweren Inselschädigungen und deutlicher diffuser Leberverfettung durch einen mäßigen Gehalt an Glykogen aus.

Kurz seien noch die Veränderungen an der *Magenschleimhaut* erwähnt, auf die wir erst recht spät aufmerksam wurden, so daß wir über ihre Häufigkeit keine Aussagen machen können. Es handelt sich makroskopisch um Blutpunkte und Schleimhauterosionen in der Fundusgegend, histologisch erkennt man Haemorrhagien und Schleimhautdefekte, die von leichten Plasmahomogenisierungen und Vacuolenbildungen über Epitheldesquamationen bis zu schweren Nekrosen gehen. Sichere A-Zellen konnten wir in der Magenschleimhaut mit den von uns verwandten Färbungen nicht nachweisen.

Tabelle 4. *Inselzellbild bei normalen und mit CoCl_2 vergifteten Ratten.*

Tier Nr.	CoCl ₂ subcutan mg					Tag der Tötung nach Versuchsbeginn	% B-Zellen	% A-Zellen
	1.	2.	3.	4.	5. Tag			
R 355	—	—	—	—	—		79	21
R 357	—	—	—	—	—		73	27
R 358	—	—	—	—	—		72	28
R 360	—	—	—	—	—		71	29
Durchschnitt							74	26
R 1	10	5				2.	70	30
R 2	5	5				3.	72	28
R 3	5	5				3.	75	25
R 4	5	5				3.	71	29
R 5	2	2	2	2	2	6.	73	27
R 6	2	2	2	2	2	6.	70	30
R 7	2	2	2	2	2	6.	71	29
R 8	2	2	2	2	2	6.	75	25
Durchschnitt							72	28

b) *Ratten.* Im *Pankreas* sämtlicher vergifteter Tiere findet sich weder im endokrinen noch im exokrinen Gewebeanteil eine Abweichung von der Norm. Das Zellbild der Inseln (Relation von A- und B-Zellen) ist nicht verändert (Tab. 4). Die schon bei normalen Ratten in wechselnder Zahl

Diese Fetttropfen wurden bei den Kontrolltieren niemals beobachtet. Am Gangepithel fanden sich keine Besonderheiten. Unter den 4 Fällen, die sich nach der CoCl_2 -Vergiftung 7 bzw. 15 Tage erholen konnten, fanden sich 2 Tiere, bei denen das exokrine Gewebe deutlich von der Norm abwich. Statt der gewöhnlichen kompakten Struktur fand sich eine Auflockerung und eine auffällige Gliederung in Läppchen, zwischen denen und bisweilen auch zwischen den Acini sich ein lockeres Bindegewebsgespinnst ausbreitete. Inseln, Gänge und Schaltstücke hatten relativ zum Acinusgewebe zugenommen. Die Acinuszellen selbst erschienen etwas verkleinert. Sie enthielten nur selten hyaline Tropfen und Vacuolen, im Sudanpräparat fand sich kein Fett. Dagegen fielen vermehrt Mitosen auf. Im ganzen erinnerte das Bild etwas an ein noch in Entwicklung befindliches Pankreas. Völlig gleich sah die Bauchspeicheldrüse bei den beiden Tieren aus, die 9 Tage lang 10 mg CoCl_2 erhielten. Von den 5 Tieren, die anschließend an diese Dosierung noch 10 Tage Erholungszeit hatten, zeigte eines keine Veränderung, bei einem war das interstitielle Bindegewebe im Pankreas etwas vermehrt, während bei 3 Tieren noch eine deutliche Atrophie des exokrinen Gewebes zu beobachten war.

In der *Nebennierenrinde* der vergifteten Tiere fanden sich im Sudanpräparat deutliche Zeichen der Aktivierung. Die normalerweise auf die äußere Zona fasciculata beschränkte sudanophile Zone hatte sich in die inneren Rindenzone ausgebreitet. Gleichzeitig fand sich eine wechselnd starke Entspeicherung der Fettsubstanzen. In den schwersten Fällen hatte sich das Maximum der Fettspeicherung von der Außenzone der Rinde etwas nach innen verlagert. Ein sicherer Zusammenhang zwischen der Inselschädigung und dem Ausmaß der Nebennierenrindenaktivierung ließ sich jedoch nicht aufdecken, wenn auch in den meisten Fällen von schwerer Inselschädigung und schwerer Intoxikation die Nebennierenveränderungen am ausgeprägtesten waren. Nekrosen und Haemorrhagien wurden nicht beobachtet. Bei den Tieren, die sich erholen konnten, war in einem Fall noch eine Ausbreitung bei ausgesprochener Vermehrung der sudanophilen Substanzen vorhanden, in den übrigen Fällen lag jedoch ein normales Rindenbild vor. Das Nebennierenmark erschien in allen Fällen intakt.

An der *Leber* fanden sich morphologisch keine sicheren Veränderungen. Nur in zwei Fällen (in 12 und 13) fielen läppchenzentral einige große vakuolisierte, aber fettfreie Zellen, sowie einzelne Leberzellnekrosen auf. Histochemisch ergaben sich jedoch deutliche Abweichungen von der Norm. Die Lebern der Kontrolltiere waren bis auf einzelne Leberzellen fettfrei. Bei den akut vergifteten Tieren fand sich in allen Fällen eine mehr oder weniger starke Leberzellverfettung, während die Tiere nach der Erholungsphase wieder fettfreie Lebern hatten. Am häufigsten fand

dieser Art der Vergiftung zu erholen. Überraschenderweise wiesen sie nahezu normale, teilweise sogar kräftig granuliert A-Zellen auf, deren Zahl gegenüber der Norm (17%) etwas vermehrt war (24%).

Die *B-Zellen* werden von den CoCl_2 -Injektionen kaum alteriert. Lediglich in 2 Fällen (M 1 und M 13) kamen in nahezu allen Inseln einzelne Kernpyknosen an B-Zellen vor (Abb. 6). Dabei war das Plasma homogen und dunkler als gewöhnlich gefärbt. Am Zellrand zeigten sich wechselnd

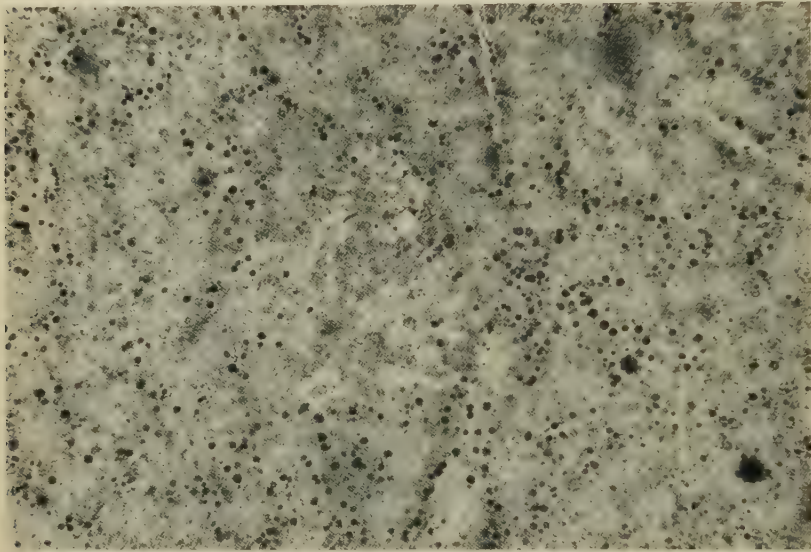


Abb. 7. Pankreas eines Meerschweinchens, das 3 Tage täglich 20—30 mg CoCl_2 erhielt und am 4. Tag getötet wurde. Man erkennt die Verfettung der Acinuszellen. In der Mitte eine kleine Insel, deren vacuolisierte A-Zellen (hell) kein Fett enthalten. (MS 9, Formol fix., Gefrierschnitt 10 μ , Haematoxylin-Sudan. Obj. Apochr. 25/Optovar 1,0/Ok. 8fach, Leica.)

zahlreiche grobe Granula, die Kerne dieser Zellen gehen schließlich durch Karyolysis zugrunde. Dabei war die Granulierung der übrigen B-Zellen normal. In den übrigen Fällen fand sich nicht einmal eine Veränderung der β -Granulierung. Sie war staubförmig und bewegte sich in den physiologischen Grenzen.

Auffallende Veränderungen waren jedoch im *exokrinen* Parenchym zu beobachten. Schon die regelmäßig vorhandene makroskopische Braunfärbung des sonst hellgelben Pankreas weist auf eine Veränderung des Gewebes hin. Bei fast allen akut vergifteten Tieren fällt eine Verkleinerung der exokrinen Zellen auf, häufig sieht man kernnahe Vacuolen und hyaline Tropfen in den Acinuszellen. Die hyalinen Tropfen kommen einzeln und in Mehrzahl vor, ihre Häufigkeit wechselt stark. Immer wieder trifft man einzelne Kernpyknosen. Im HS-Präparat fällt eine Ablagerung kleiner sudanophiler Tropfen in den basalen Abschnitten der Acinuszellen auf (Abb. 7).

in normaler Zahl vorhanden, in 2 Fällen leicht vermindert. Allerdings unterschieden sie sich deutlich von normalen A-Zellen. Sie sind kleiner als normal, die Zellbegrenzung ist häufig bizarr. Anscheinend besteht eine Schrumpfnungsneigung. Die Kerne sind intakt, aber etwas kleiner als gewöhnlich. Die Granulierung ist dürftig, die Granula sind eher staubförmig, also deutlich kleiner als gewöhnlich und in einigen

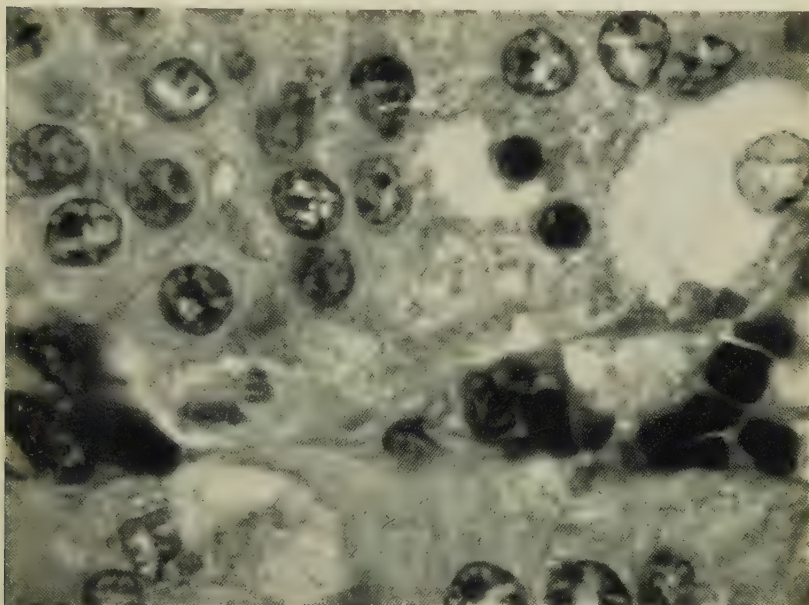


Abb. 6. Ausschnitt aus einer LANGERHANSschen Insel eines Meerschweinchens, das 3 Tage täglich 30 mg CoCl_2 erhielt und am 4. Tage getötet wurde. Oben re. eine vacuolierte A-Zelle und 2 B-Zellkernpyknosen, zwischen den beiden Capillaren eine gestörte B-Zellmitose. (MS 13, Bouin fix., $4\ \mu$, Azanfärbung nach GOMORI, Phasenkontrast H.I. 100/Optovar 1,6/Ok. 8fach, Leica.)

Zellen nur mit der Phasenkontrastoptik auszumachen. Die Unterscheidung von B-Zellen gelingt jedoch schon durch die andere Tönung des Plasmas. Bisweilen ist das Plasma sogar homogen rot (GOMORI-Azanfärbung) und dunkler als gewöhnlich gefärbt. Die Granulierung war deutlicher und die Zellen größer bei den beiden Tieren, die sich 15 Tage lang erholen konnten. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung, die wir an 7 Tieren machen konnten, die 9—10 Tage lang täglich 10 mg CoCl_2 erhielten. 2 Tiere wurden am 10. Tag getötet und zeigten nur einzelne teilweise vacuolierte A-Zellen. Im übrigen glich das A-Zellbild demjenigen der Tiere, die sich 7 Tage lang von der CoCl_2 -Vergiftung erholen konnten. Man sieht eine hochgradige Degranulierung, in einigen A-Zellen homogen rosa gefärbtes Plasma, in einigen staubförmige α -Granula. 5 Tiere hatten Gelegenheit, sich 10 Tage von

Tabelle 3. Inselzellbild bei normalen und mit CoCl_2 vergifteten Meerschweinchen.

Tier Nr.	mg CoCl ₂ subcutan				Tag der Tötung nach Ver- suchsbeginn	%	%	%
	1.	2.	3.	4. Tag				
MS 280	}	Kontrollen				83	17	
MS 279						85	15	
MS 278						84	16	
MS 42						81	19	
MS 281						83	17	
MS 282						81	19	
Durch- schnitt						83	17	—
MS 1	3 × 30	4 × 30	30		2.	80	17	3
MS 2	3 × 30	4 × 30			2.	86	14	—
MS 4	30	30			5.	87	7	6
MS 5	30	20			3.	82	13	5
MS 6	30	20			3.	91	1	8
MS 9	30	20			4.	82	13	5
MS 10	30	20			4.	83	15	2
MS 12	30	20			4.	83	6	11
MS 13	30	30			4.	87	5	8
MS 16	20	20			4.	85	10	5
MS 17	20	20	20	4.	77	15	8	
MS 18	20	20	20	4.	87	2	11	
MS 19	20	20	20	4.	86	11	3	
MS 20	20	10	20	4.	88	2	10	
MS 14	20	20	20	15	10.	81	19	—
MS 15	20	20	20		10.	86	14	—
MS 24	20	10	10		20.	87	13	—
MS 25	20	10	10		20.	81	19	—
Durch- schnitt						84	16	—
MS 326	9 Tage lang tgl. 10 mg				10.	84	16	—
MS 32	10 Tage lang tgl. 10 mg				11.	83	17	—
MS 330	}	9 Tage lang			20.	75	25	—
MS 710		täglich 10 mg			20.	72	28	—
MS 33	}	10 Tage lang			20.	78	22	—
MS 34		täglich 10 mg			20.	74	26	—
MS 35					20.	80	20	—
Durch- schnitt						76	24	—

Kernmembran etwas eingedellt. Der Nucleolarapparat erscheint intakt. Allerdings begegnen in besonders geschädigten Inseln immer wieder Bilder, die an einen vollständigen Zelluntergang denken lassen. Hier sieht man nämlich eine Abnahme der Färbbarkeit des Kernes und Bilder von Karyolyse. An anderen Stellen ist die Zellvacuole übersät mit Chromatinbröckeln, so daß man eine Karyorhexis annehmen muß. Der totale Untergang einiger A-Zellen ergibt sich auch aus dem Ergebnis der

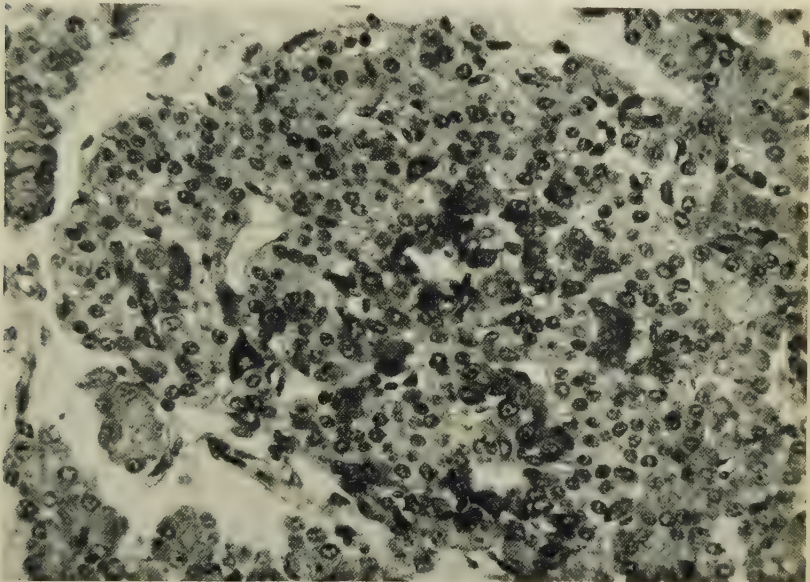


Abb. 5. LANGERHANSsche Insel eines Meerschweinchens, das 4 Tage täglich 10—20 mg CoCl_2 erhielt und sich anschließend 14 Tage erholen konnte. Die Granulierung der A-Zellen ist feiner als gewöhnlich, im übrigen normales Inselbild. (MS 25, Bouin fix., 4 μ , Azanfärbung nach GOMORI, Obj. Apochr. 25/Objovar 1,0/Ok. 8fach, Leica.)

Auszählung (Tab. 3). Diese wurde getrennt nach B-Zellen, α -Granula enthaltenden A-Zellen und vollständig vakuolisierten Zellen vorgenommen. Unter der berechtigten Annahme, daß auch alle vollständig vakuolisierten Zellen A-Zellen darstellen, ergibt sich, daß A-Zellen und vakuolisierte Zellen zusammen in einigen Fällen nicht die normale A-Zellzahl erreichen. Selbst wenn man einräumt, daß einige vollständigdegranulierte (aber nicht vakuolisierte Zellen) zu den B-Zellen gerechnet wurden, was jedoch nicht allzu häufig der Fall sein dürfte, ist dadurch der vollständige Untergang einiger A-Zellen sehr wahrscheinlich. Die Mehrzahl der A-Zellen dürfte jedoch die Schädigung überleben und sich wieder restaurieren.

Das ergibt sich aus den 4 Tieren, die nach 3- bzw. 4tägiger Vergiftung 7 bzw. 15 Tage Zeit hatten, sich zu erholen. Hier fehlten in den Inseln vakuolisierte Zellen vollständig (Abb. 5). Die A-Zellen waren in 2 Fällen

größer und zeigen zunehmende Vakuolisierung. Man findet eine oder mehrere Vacuolen verschiedener Größe. Offensichtlich durch Zusammenfließen mehrerer kleinerer Vacuolen entsteht schließlich ein aufgeblasener Zelleib, in dem der Kern zentral oder am Rande liegt. Meist ziehen noch zarte Cytoplasmabrücken vom Zellrand zum Kern, bisweilen liegt er völlig isoliert in der optisch leeren Vacuole. In den Resten des Cytoplasmas und zum Teil in den fadenförmig zum Kern ziehenden Brücken

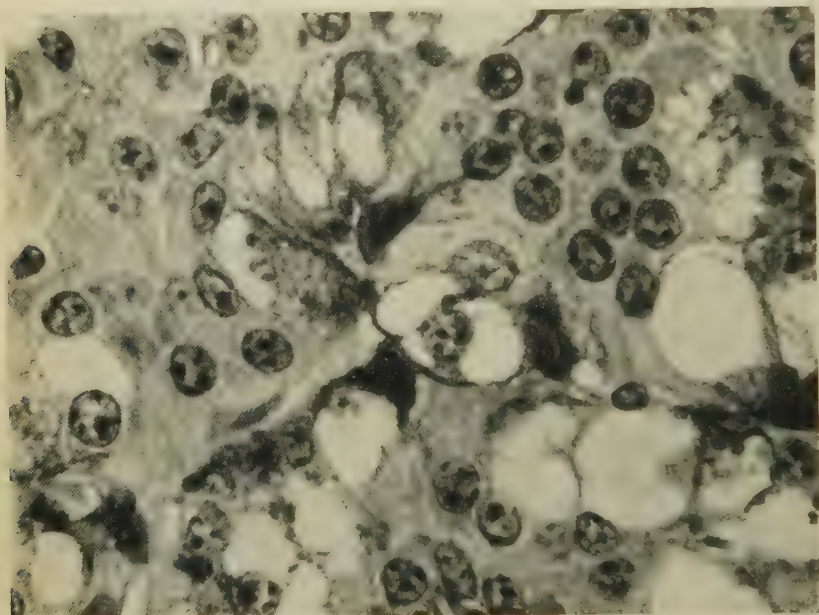


Abb. 4. Ausschnitt aus einer LANGERHANSschen Insel vom gleichen Tier wie Abb. 3. Man erkennt die verschiedenen Grade der Degranulation und Vacuolisierung der A-Zellen. (MS 17, Bouin fix., 4 μ , Azanfärbung nach GOMORI, Phasenkontrast H.I. 100/Optovar 1,0/Ok. 8fach, Leica.)

kann man häufig noch deutliche α -Granula erkennen, die dann vergrößert erscheinen. Bemerkenswerterweise finden sich bisweilen in gut granulierten A-Zellen bereits große Vacuolen, während in anderen Fällen fast vollständige Degranulation erfolgt ist, bevor eine einzige Vacuole aufgetreten ist. Die beiden Vorgänge scheinen sich zwar häufig, jedoch nicht gesetzmäßig zu folgen (Abb. 4). Der Inhalt der Vacuolen färbt sich weder mit BESTschem Carmin, noch mit Sudan an, enthält also weder Glykogen, noch Fett (Abb. 7). In den gefrier-geschnittenen HS-Präparaten erkennt man besonders schön die enorme Größe der vacuolisierten A-Zellen, die demnach beim Einbettungsvorgang erheblich schrumpfen. Auffälligerweise ist der Zellkern von diesen Vorgängen nur wenig berührt. Selbst in extrem vacuolisierten Zellen ist er bläschenförmig. Bisweilen ist die

4. Versuche mit anderen Schwermetallsalzen (Fe, Mn, Ni).

I. V.-Injektionen von 0,5 cm³ (— 1mg Fe⁺⁺) und 2 cm³ (= 4 mg Fe⁺⁺) Ceferro (Nordmark) bewirken keine Blutzuckerveränderung beim Kaninchen. Ebenso wenig verändert FeSO₄ (2 mg pro kg und 5 mg pro kg i. v.) in 1 cm³ physiologischer NaCl-Lösung den Blutzucker deutlich. Auch MnCl₂ (2 und 5 mg pro kg i. v.) hat keine blutzuckersteigernde Wirkung beim Kaninchen.

Tabelle 5. Inselzellbild bei Kaninchen unter verschiedenen Versuchsbedingungen.

Tier Nr.	Vorbehandlung	CoCl ₂	% B-Zellen	% A-Zellen
K 839	Kontrolle	—	77	23
K 840	Kontrolle	—	86	14
K 900	Kontrolle	—	85	15
K 901	Kontrolle	—	81	19
K 902	Kontrolle	—	81	19
Durchschnitt			82	18
K 6	—	2×40 mg i.v.	85	15
K 8	—	2×30 mg i.v.	85	15
K 9	—	in 14 Tagen 710 mg i.v. (höchste Tagesdosis 2×60 mg)	78	22
K 10	—	4×40 mg i.v. in 2 Tagen	76	24
K 11	—	in 11 Tagen 770 mg i.v. (höchste Tagesdosis 2×50 mg)	78	22
K 12	—	in 3 Tagen 400 mg s.c.	81	19
K 13	—	in 5 Tagen 750 mg s.c.	87	13
Durchschnitt			81	19
K 1	200 mg/kg Alloxan i.v.	—	42	58
K 3	200 mg/kg Alloxan i.v.	25 und 30 mg i.v.	25	75
K 4	200 mg/kg Alloxan i.v.	30 und 35 mg i.v.	42	58
K 359	200 mg/kg Alloxan i.v.	2×40 mg i.v.	53	47

Dagegen beobachteten wir nach i. v. Gaben von NiCl₂ regelmäßig eine Blutzuckersteigerung. Diese war mit 2 mg pro kg (ohne Kristallwasser berechnet) nicht sehr deutlich, mit 4—6 mg pro kg jedoch regelmäßig nachzuweisen. Die Untersuchungen wurden an 3 verschiedenen Kaninchen ausgeführt. Nach 15 min war der Blutzucker nur dann verändert, wenn er später über 200 mg% anstieg. Im allgemeinen war bei der genannten Dosierung der Anstieg nach 30 min deutlich und erreichte nach 60 min den Gipfel mit durchschnittlich 200 mg%, nach 3 Std war der

Blutzucker in der Regel wieder normal. Bei Ratten ließ sich mit Dosen von 3 mg pro 100 g s. c. ein deutlicher Blutzuckeranstieg bei 6 Versuchen nur einmal erzeugen.

Die wenigen orientierenden Untersuchungen hinsichtlich der durch NiCl_2 verursachten histologischen Veränderungen ergaben bei Ratten und Meerschweinchen eine diffuse Leberverfettung und in den Nebennieren Zeichen einer erheblichen Belastung (Ausbreitung der sudanophilen Substanzen und Entspeicherung).

In den LANGERHANSschen Inseln der Ratte fanden sich keine Veränderungen. Beim Meerschweinchen waren die A-Zellen jedoch nach 3—4 täglichen Injektionen von 20 mg NiCl_2 teilweise deutlich degranuliert. Im Cytoplasma der degranulierten A-Zellen fanden sich immer wieder kleine Vakuolen. Der Kern dieser Zellen war auffällig chromatinarm. Die ausgeprägte Vakuolisierung, wie sie nach CoCl_2 die Regel ist, konnten wir jedoch nicht beobachten. Der Nüchternblutzucker der Meerschweinchen mit der beschriebenen A-Zellveränderung lag wie bei den Ratten bei der Tötung um 100 mg%.

Erörterung der Befunde.

Die geschilderten Intoxikationserscheinungen und Todesfälle nach den von uns benutzten CoCl_2 -Dosen bei Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen zeigen, daß eine höhere Dosierung nicht möglich ist, wenn man den Ausfall des A-Zellensystems am lebenden Tier untersuchen will. Die tödliche Giftwirkung richtet sich bei Nagetieren in erster Linie gegen das Zentralnervensystem, wie Lähmungen und Krämpfe beweisen (vgl. HENDRYCK u. WEDEN 1934).

Bei der Untersuchung der LANGERHANSschen Inseln fanden wir in Bestätigung der Befunde von VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS (1951) beim Meerschweinchen mit den von diesen Autoren angegebenen CoCl_2 -Dosierungen schwere Alterationen des A-Zellensystems. Während nach 30 Std nur eine deutliche Degranulierung und vereinzelte Vacuolenbildung in den A-Zellen zu beobachten sind, imponieren die Inseln nach 3—4 Tagen täglicher CoCl_2 -Injektionen als durchlöcherzte Gebilde, weil ein Teil der A-Zellen nahezu völlig vakuolisiert ist. Die restlichen A-Zellen sind mehr oder weniger degranuliert. Degranulation und Vacuolisierung laufen teilweise nebeneinander her, teilweise folgt die Vakuolisierung dem Granulaverlust. Die Vacuolen enthalten weder Fett noch Glykogen. Das ist insofern von Interesse, als TORESON (1951) die Glykogenablagerung als das Wesen der hydropischen Degeneration der B-Zellen beim Diabetes und nach abnormer Belastung erkannte, die morphologisch den beschriebenen A-Zellveränderungen außerordentlich ähnlich ist. Der Zellkern bleibt erstaunlich lange intakt. Sichere Kernuntergänge konnten wir nur selten beobachten. Die Auszählung der Inselzellen zeigt aber, daß in einigen Fällen A-Zellen vollständig zugrundegehen. Eine vollständige Eliminierung des A-Zellensystems ist jedoch mit CoCl_2 nicht möglich, weil die Substanz zu toxisch ist und vorher zum Tode der Meerschweinchen führt. Ob die Degranulation und Vakuolisierung der meisten A-Zellen dennoch als funktionelle Ausschaltung des Systems gewertet werden

kann, sei dahingestellt. In den meisten Fällen scheinen die Zellschädigungen reversibel zu sein, wie die Untersuchung von Tieren zeigte, die nach der 3—4tägigen Vergiftung 8—14 Tage Zeit zur Erholung hatten. Die A-Zellen sind in diesen Fällen wieder in normaler Zahl vorhanden, lassen jedoch noch Spuren der überstandenen Schädigung, vor allem in Form einer spärlichen und staubförmigen Granulierung erkennen. Vergiftet man Meerschweinchen 10 Tage lang mit der gut verträglichen Dosis von 10 mg CoCl_2 /Tag, so bieten sie ein ähnliches Bild. Läßt man solchen Tieren 10 weitere Tage Zeit zur Erholung, so erscheinen die A-Zellen nahezu normal, ihre Zahl hat jedoch gegenüber der Norm (17% im Durchschnitt) zugenommen (24% durchschnittlich bei 5 Tieren).

Die nur in zwei Fällen beobachteten B-Zellendegenerationen, die dem Modus der Alloxanschädigung gleichen, müssen als Ausnahme betrachtet werden und bedürfen keiner besonderen Erörterung. Über die mögliche Bedeutung der Schädigung des exokrinen Parenchyms wird noch zu sprechen sein.

Im Gegensatz zu GOLDNER, VOLK u. LAZARUS (1952) sowie VOLK, LAZARUS u. GOLDNER (1953), die bei Kaninchen nach intravenösen CoCl_2 -Gaben eine schwere Schädigung und schließlich vollständige Eliminierung der A-Zellen beschrieben, konnten wir sogar mit bedeutend höheren Dosierungen als von den Autoren angegeben und zahlreichen Wiederholungsinjektionen keine Veränderungen an den A-Zellen beobachten. Bei Ratten, die bisher unseres Wissens noch nicht auf eine A-Zellschädigung auf CoCl_2 -Injektion hin untersucht wurden, fanden wir ebenfalls keine Veränderungen an den A- und B-Zellen der Inseln.

Wir können uns die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen von GOLDNER und Mitarbeitern bei Kaninchen und unseren eigenen Beobachtungen nicht erklären. Vielleicht spielte eine unterschiedliche Empfindlichkeit der verschiedenen Tierstämme eine Rolle. Auffällig ist aber, daß die Autoren schon eine Stunde nach der CoCl_2 -Injektion Kernpyknosen und Homogenisierung des Plasmas in den A-Zellen sahen, die in allen Fällen zum Untergang dieser Zellen führen, so daß nach 24 Std die meisten Inseln frei von A-Zellen waren. Die Form des A-Zelluntergangs entspricht nämlich in keiner Weise den beim Meerschweinchen von VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS und uns beobachteten A-Zellschädigungen, die ja in Degranulierung und hochgradigen Vakuolisierungen der A-Zellen nach einigen Tagen täglicher CoCl_2 -Injektion (keinesfalls jedoch nach Stunden!) bestanden. Es wäre sehr ungewöhnlich, wenn die gleiche Substanz bei 2 verschiedenen Nagetieren dermaßen unterschiedliche Zellschädigungen setzt. Weiß man doch z. B. vom Alloxan, daß die Degeneration der B-Zellen bei allen darauf untersuchten Tieren morphologisch gleichartig verläuft, und zwar in Form einer akuten Zellschädigung, die in wenigen Minuten bis Stunden einsetzt und zum Zelluntergang führt.

Wie soll man jedoch das unterschiedliche Verhalten der verschiedenen Nagetiere erklären? Diese Frage berührt zugleich den Wirkungsmechanismus der CoCl_2 -Schädigung der A-Zellen. Geht man zunächst vom morphologischen Bild aus, das sich ja außerordentlich langsam entwickelt, und

in der Regel keineswegs zu einem Untergang der Zellen führt, so drängt sich der Gedanke auf, daß die Zellen weniger primär geschädigt, als vielmehr abnorm belastet werden und dann sekundär degenerieren. In diesem Sinne könnte man die Degranulation und Vakuolisierung bei sehr lange erhaltener Kernstruktur deuten sowie die Tatsache, daß sich die A-Zellen nach Absetzen des Giftes nach einigen Tagen wieder erholen, wobei sie zunächst noch schwach granuliert sind, später aber normal erscheinen. Die B-Zellen der Inseln reagieren jedenfalls bei Überlastung in dieser Weise, wie vom YOUNG-Diabetes und Überzuckerungsdiabetes (LUKENS) bekannt ist. Haben wir einen Anhalt für eine solche Überforderung des A-Zellensystems etwa in Form morphologischer Veränderungen anderer Organe, denen im Kohlenhydrathaushalt eine wesentliche Funktion zukommt?

Nach FERNER (1951) bildet die *Hypophyse* „ein alphacytotropes Hormon“, das mit dem STH identisch sein soll. BAKER, SCHAIRER, INGLE u. LI sahen A-Zelldegranulationen nach ACTH-Gaben. Wir haben die Hypophysen unserer Versuchstiere nicht untersucht. VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS fanden jedoch keine Veränderung an den verschiedenen Zelltypen der Hypophyse.

Die *Nebennierenrinde* interessiert insofern, als VERNE u. HEBERT (1951) nach Ammanit-Vergiftung sowie Ölmast der Ratte eine der Leberverfettung und abnormen Fettanreicherung in der Nebennierenrinde parallel gehende Degranulierung und Vakuolisierung der A-Zellen sahen. Es ist jedoch keineswegs geklärt, ob dem vieldeutigen Symptom der Fettanreicherung in der Nebennierenrinde hierbei eine ursächliche Rolle zukommt. Die Untersuchung der Nebenniere ergab bei unseren Tieren in den meisten Fällen eine Ausbreitung der sudanophilen Substanzen in die inneren Rindenschichten und eine wechselnd stark ausgeprägte Entspeicherung, die als Zeichen einer Nebennierenrindenbelastung bekannt sind (SELYE, TONUTTI). Es dürfte sich hierbei um eine unspezifische Reaktion im Sinne eines Stress handeln. Gleiche Veränderungen fanden sich bei den Ratten, bei denen die A-Zellschädigung fehlte. Pankreasuntersuchungen bei Meerschweinchen, deren Nebennieren hochgradige Zeichen einer Belastung boten (CREUTZFELDT, HUSTEN u. HAAGER 1953) hatten keinerlei Inselveränderungen ergeben (unveröffentlicht). Außerdem wurden beim Steroiddiabetes des Meerschweinchens lediglich B-Zellschädigungen, jedoch keinerlei Veränderungen an den A-Zellen gesehen (HAUSBERGER u. RAMSAY 1953).

Die Befunde von VERNE u. HEBERT über A-Zellschädigung bei Ammanitvergiftung und Ölmast weisen sodann auf die mögliche ursächliche Rolle der *Leberverfettung*. Eine ausgesprochene Fettleber entsteht bei der CoCl_2 -Vergiftung des Meerschweinchens nicht, eine Leberschädigung ist jedoch vorhanden. VILLARET u. Mitarbeiter (1931) beschrieben nach monatelanger Zufuhr von CoCl_2 bei Meerschweinchen und Kaninchen

das Auftreten von Leberzirrhosen. VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS (1952) beobachteten bei ihren Versuchen „Leberzellschwellungen“. Unsere akut vergifteten Tiere zeigten regelmäßig eine mäßige diffuse Leberverfettung. Es dürfte jedoch schwer sein, sie in ursächliche Beziehung zur A-Zellschädigung zu bringen, da sie ein zu geläufiges Ereignis bei Intoxikation darstellt und außerdem bei Ratten ebenfalls nachweisbar war, wo ja die A-Zellen intakt blieben.

Bemerkenswert erscheint uns nun in diesem Zusammenhang die Alteration des *exokrinen Pankreasgewebes* bei den vergifteten Meerschweinchen, auf die unseres Wissens bisher noch nicht geachtet wurde. Das Pankreas ist nach akuter Vergiftung bräunlich verfärbt, die Acinuszellen enthalten hyaline Tropfen, optisch leere Vakuolen und sudanophile Tropfen in wechselnder Zahl. Nach der Erholung von der Vergiftung beobachteten wir in mehreren Fällen eine erhebliche Reduktion des Acinusgewebes, das nun deutliche Regenerationsbestrebungen zeigte.

Nach BERTRAND u. MACHEBOEUF ist das Pankreas von Mensch und Tier das relativ kobaltreichste Organ. Nach Untersuchungen mit radioaktivem Kobalt (Co^{60}) ist das Kobalt gleichmäßig über das Pankreas verteilt und bevorzugt nicht die LANGERHANSschen Inseln (ULRICH u. COPP 1951). Sämtliche mit Co^{60} gemachten Untersuchungen sprechen nach SCHWIEGK (1953) dafür, daß das Pankreas für Kobalt eine Ausscheidungs- und keine Speicherungsfunktion hat.

Möglicherweise hat die Ausscheidung so großer Kobaltmengen, wie sie in unseren Versuchen injiziert wurden, zu den morphologischen Veränderungen der Acinuszellen geführt. Wie schwer die Ausscheidung das Gewebe belasten kann, zeigen ja die *Magenschleimhautnekrosen*, die wir in Übereinstimmung mit der Literatur beobachten konnten. Reizvoll könnte es nun erscheinen, unter der Annahme einer sich örtlich, also am Pankreas selbst auswirkenden endokrinen Funktion der A-Zellen, wie sie FEYRTER (1953) zumindest als Teilfunktion der A-Zellen annimmt, die A-Zellschädigung als Folge einer Überlastung oder Schädigung des Acinusgewebes zu deuten. Die vorliegenden Befunde sind jedoch für die Haltbarkeit einer solchen Hypothese nicht sehr beweiskräftig. Bei den kobaltvergifteten Ratten sahen wir keine Schädigung des exokrinen Gewebes, bei den Kaninchen nur bei höchsten Dosen. Hier fehlten jedoch die A-Zellveränderungen.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit, die zugleich auch die Sonderstellung des Meerschweinchens beleuchten könnte, wäre die Annahme einer morphologisch nicht faßbaren Wirkung des Kobalt auf Stoffwechselvorgänge oder Fermentsysteme, die unter dem Einfluß des A-Zellhormons stehen. Durch ihre Blockierung entstünde dann ein erhöhter Bedarf an diesem Inkret. In der Tat wird dem Kobalt durch Komplexbildung mit freien Sulfhydrylgruppen und enolisierbaren Carbonylgruppen eine Blockierung wasserstoffübertragender Redoxsysteme nachgesagt

(WEISSBECKER 1950). Damit wäre noch kein Hinweis auf die spezifische Funktion der A-Zellen gegeben. Immerhin könnte man sich mit einer solchen Hypothese aber erklären, warum die A-Zellschädigungen ausgerechnet beim Meerschweinchen auftreten. Dieses Tier besitzt ja hinsichtlich seines Ascorbinsäure- und Glutathionstoffwechsels eine Sonderstellung. Die erhebliche Alloxanresistenz des Meerschweinchens läßt sich nach COLLINS-WILLIAMS u. Mitarbeiter (1950) durch den erhöhten Glutathionspiegel im Blut dieser Tiere, noch besser aber durch den erhöhten Gehalt des Inselgewebes an Glutathion erklären. An welcher Stelle des Systems das Kobalt angreift, ist natürlich schwer zu sagen. Möglicherweise spielt sich der Mechanismus der Komplexbildung und Blockierung aber rein lokal innerhalb der A-Zellen ab. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang jedenfalls, daß bei Meerschweinchen, die 10 Tage lang die gut verträgliche Dosis von 10 mg CoCl_2 /Tag erhielten und sich anschließend 10 Tage erholen konnten, die Zahl der A-Zellen zuzunehmen scheint. Die leichte CoCl_2 -Vergiftung stellt demnach einen Proliferationsreiz für die A-Zellen dar.

Die vorstehenden Erörterungen gingen von der morphologisch begründeten Annahme aus, daß die A-Zellen durch die CoCl_2 -Vergiftung abnorm belastet und dadurch sekundär geschädigt werden. Aufschlußreicher als Hinweis auf die A-Zellenfunktion scheinen die Befunde von VUYLSTEKE, CORNELIS u. DE DUVE (1952) sowie ESER u. TÜZÜNKAM (1952) zu sein, wonach das Pankreas kobaltvergifteter Meerschweinchen weniger HG-Faktor enthält als gewöhnlich. Es liegt nahe, diese Abnahme des Glucagongehaltes (bestimmt im Blutzuckertest und mit Hilfe der Glykogenolyse an Leberschnitten) mit der Schädigung der A-Zellen in Beziehung zu bringen. Beweiskräftig sind die Befunde unserer Meinung nach jedoch nicht, weil einmal auch Schädigungen des exokrinen Gewebes vorlagen (siehe oben) und zum anderen Untersuchungen über die Beeinflussung des HG-Faktors durch Kobalt bisher fehlen. Die von den Autoren benutzten Extrakte dürften nämlich außerordentlich kobaltreich gewesen sein, weil sich das Metall im Pankreas anreichert. Lassen sich die beschriebenen morphologischen CoCl_2 -Wirkungen nun mit bestimmten Blutzuckeränderungen korrelieren und ergibt sich daraus ein Hinweis auf die Bedeutung des A-Zellsystems für die Blutzuckerregulation?

Über die Blutzuckerwirkungen von Kobaltsalzen finden sich recht widersprechende Mitteilungen in der Literatur. BERTRAND u. MACHEBOEUF (1926) beobachteten nach s. c. Injektionen von 0,05–0,01 mg Kobalt oder Nickel (als Chlorid oder Sulfat) eine Verlängerung jedoch keine Verstärkung der Insulinwirkung. Die alleinige Injektion der Metalle blieb ohne Einfluß auf den Blutzucker. Das gleiche fanden LABBÉ, ROUBEAU u. NEPREUX (1927) während BLATHERWICK u. SAHYM (1927) die Experimente nicht reproduzieren konnten. TRACHENKO (1928) beobachtete mit 0,1 mg pro kg Kobalt- und Nickelsalz eine Verstärkung der Insulinwirkung und mit 0,2–0,4 mg pro kg Kobalt- und Nickelsalz allein eine leichte Senkung des

Blutzuckers beim Kaninchen. MAGENTA (1928) dagegen fand, daß 0,01—1 mg pro kg Kobalt oder Nickelnitrat und Sulfat i. v. beim Hund die Insulinwirkung nicht beeinflussen, während die Salze allein zu einer leichten Blutzuckersteigerung führen. Ähnlich widerspruchsvoll sind die Befunde, die mit Kobaltsalzen beim menschlichen Diabetes mellitus erhoben wurden (vgl. HENDRYCH u. WEDEN 1934).

GOLDNER, LAZARUS u. VOLK (1952) sowie VOLK, LAZARUS u. GOLDNER (1953) beobachteten bei i. v. Injektion wesentlich höherer Kobaltdosen (30—50 mg CoCl_2) regelmäßig deutliche Blutzuckersteigerungen beim Kaninchen. Ausgehend von ihrem Befund einer vollständigen A-Zellzerstörung nach einmaliger Gabe von 50 mg Kobaltchlorid und erneutem Blutzuckeranstieg bei wiederholten Injektionen schlossen sie, daß die Wirkung dieser Substanz auf den Blutzucker extrapankreatischer Natur ist. VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS (1951) fanden nach intracardialer Gabe von 30 mg CoCl_2 beim Meerschweinchen einen erheblichen Blutzuckeranstieg, den sie mit einigen Vorbehalten als Folge einer A-Zellstimulation deuteten, obwohl die A-Zellen dabei nicht alteriert wurden.

Auf Grund unserer eigenen Untersuchungen sind wir der Meinung, daß die Blutzuckeränderung durch CoCl_2 nicht mit den A-Zellen in Verbindung gebracht werden können. Bei Ratten bewirken 13—33 mg/kg CoCl_2 subcutan keine Blutzuckersteigerung und keine A-Zellveränderung, bei Kaninchen führen 50—70 mg/kg CoCl_2 subcutan zu einem deutlichen Blutzuckeranstieg, jedoch zu keiner morphologisch faßbaren A-Zellveränderung. Insulinbelastungen am Tage nach hohen CoCl_2 -Gaben verliefen in gleicher Weise wie am Vortage. Bei intravenösen Applikationen lassen sich sogar noch mit 0,5 mg/kg CoCl_2 regelmäßige Blutzuckeranstiege um etwa 30 mg% erzielen.

Über den Wirkungsmechanismus lassen sich zunächst nur Vermutungen äußern. WEITZEL u. Mitarbeiter (1953) diskutieren hinsichtlich der Blutzuckerwirkung kleinster Mengen von Zinkverbindungen eine Beeinflussung von Fermentsystemen, die Zinkmoleküle enthalten bzw. durch Zink aktiviert werden. In analoger Weise ließe sich die Kobaltwirkung deuten. Die Tatsache, daß die Blutzuckersteigerung bei hohen toxischen Dosen nicht wesentlich höher ist als bei kleinsten Gaben, spricht in diesem Sinne und gegen eine zentral nervöse Stimulierung, die bei der toxischen Wirkung des CoCl_2 auf das Zentralnervensystem angenommen werden könnte. Beim Fehlen einer A-Zellschädigung durch CoCl_2 beim Kaninchen nimmt es nicht wunder, daß es uns nicht gelang, den Alloxandibabetes dieser Tiere durch CoCl_2 zu beeinflussen. Mit diesem Befund stehen wir in Übereinstimmung mit VOLK, LAZARUS u. GOLDNER (1952) gegen AVEZZU u. LUISE (1951), die den Alloxandibabetes von Kaninchen mit CoCl_2 bessern konnten. Der gestörte Kohlenhydratstoffwechsel beim Alloxandibabetes erklärt wohl, warum wir sogar eindeutige Blutzuckersteigerungen nach hohen intravenösen Gaben von CoCl_2 bei alloxandiabetischen Kaninchen vermißten.

Bedauerlicherweise haben wir keine Blutzuckerkurven bei Meerschweinchen gewinnen können, bei denen ja eine sichere A-Zellschädigung

zu beobachten ist. Lediglich die normalen Nüchternblutzuckerwerte bei der Tötung, die wir in Übereinstimmung mit VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS (1951) fanden, geben einen gewissen Hinweis darauf, daß auch bei erheblicher Alteration des A-Zellsystems ein normaler Blutzuckerspiegel aufrechterhalten wird. Es kann hier eingewandt werden, daß die A-Zellen nicht vollständig eliminiert waren. Ihre vorübergehende funktionelle Ausschaltung dürfte jedoch sehr wahrscheinlich sein. Histochemisch findet sich bei den akut vergifteten Meerschweinchen oft eine erhebliche Verminderung des Leberglykogens. Die Tatsache, daß in einigen Fällen von schwerer A-Zellschädigung noch ein mäßiger Leberglykogengehalt vorhanden war, verbietet jedoch, den Glykogenschwund mit der A-Zellschädigung in direkte Verbindung zu bringen. Auch hier muß wieder betont werden, daß der Mechanismus der CoCl_2 -Wirkung wahrscheinlich komplexer Natur ist.

Überhaupt muß vor zu weit gehenden Schlüssen aus den bisher veröffentlichten Kobaltversuchen gewarnt werden. Mit dem CoCl_2 haben wir keineswegs eine Substanz in der Hand, die auf Grund einer cytotoxischen Wirkung in der Lage ist, die A-Zellfunktion in ähnlicher Weise aufzuklären, wie das Alloxan es hinsichtlich der B-Zellfunktion vermochte.

Ein letzter Hinweis darauf, wie problematisch es ist, Blutzuckersteigerung und A-Zellalteration direkt zu korrelieren, ergibt sich aus unseren Versuchen mit Schwermetallen, die dem Kobalt nahestehen. Eisen und Mangansalze (bis 5 mg pro kg intravenös) beeinflussen bei Kaninchen den Blutzucker nicht. 5 mg pro kg Nickelchlorid intravenös führen dagegen zu regelmäßigen Blutzuckersteigerungen bis 200 mg%. Bei Ratten wurde der Blutzucker durch Nickelchlorid nicht deutlich verändert. Beim Meerschweinchen führte diese Substanz lediglich zu einer mäßigen Degranulation, jedoch nicht zu der für die CoCl_2 -Vergiftung typischen schweren Vakuolisierung der A-Zellen. Die Wirkung des Nickels auf den Blutzucker kann ähnlich gedeutet werden wie die des Kobalts. Die nur leichte Alteration der A-Zellen beim Meerschweinchen könnte man unter Umständen dahin interpretieren, daß das Nickel eine geringere Affinität als das Kobalt zu den spezifischen Stoffwechselvorgängen hat, die von den A-Zellen abhängen bzw. in ihnen ablaufen (vgl. S. 507).

Zusammenfassung.

1. Subcutane Injektionen von 20—30 mg Kobaltchlorid führen beim Meerschweinchen in einigen Tagen zu hochgradiger Degranulation und Vakuolisierung der A-Zellen der LANGERHANSschen Inseln (VAN CAMPENHOUT u. CORNELIS). Die Zellkerne bleiben in den meisten Fällen intakt. Die Bestimmung der Relation von A- und B-Zellen durch Auszählung ergibt jedoch, daß in einigen Fällen ein Teil der A-Zellen zugrundegeht.

Eine vollständige Eliminierung der A-Zellen ist durch CoCl_2 nicht möglich, weil die Substanz zu toxisch ist. Die geschädigten A-Zellen erholen sich nach 8—14 Tagen wieder, wenn die Tiere überleben. Nach 10täglichen Injektionen von 10 mg CoCl_2 und 10 Erholungstagen scheint die A-Zellzahl zuzunehmen. Die leichte CoCl_2 -Vergiftung stellt demnach einen Proliferationsreiz für die A-Zellen dar.

2. Bei Ratten und Kaninchen konnten selbst bei hochtoxischen CoCl_2 -Dosen (subcutan und intravenös) keine Inselzellveränderungen und keine Verschiebung der A-B-Zellrelation beobachtet werden, wie sie von GOLDNER und Mitarbeiter beim Kaninchen beschrieben wurden.

3. CoCl_2 führt beim Meerschweinchen zu toxischen Erscheinungen seitens des Zentralnervensystems, zu Schädigungen des exokrinen Pankreasgewebes, zu diffuser Leberverfettung, zu einer erheblichen Nebennierenbelastung und zu Magenschleimhauterosionen. Bei Kaninchen und Ratten sind dosisabhängige ähnliche Veränderungen, jedoch zum Teil in geringerem Ausmaße, nachzuweisen.

4. Die langsame Entstehung und das morphologische Bild der A-Zellschädigung beim Meerschweinchen sprechen dafür, daß die Zellen durch CoCl_2 weniger primär geschädigt, als vielmehr abnorm belastet werden und dann sekundär degenerieren. Der Entstehungsmechanismus der nur beim Meerschweinchen auftretenden A-Zellschädigung wird diskutiert.

5. Der Nüchternblutzucker ist bei CoCl_2 -vergifteten Meerschweinchen trotz schwerer A-Zellschädigung nicht verändert und das Leberglykogen nicht in allen Fällen herabgesetzt.

6. Der Blutzuckerspiegel von Ratten wird durch CoCl_2 nicht beeinflusst. Bei Kaninchen erfolgt jedoch bei subcutaner und intravenöser Injektion ein deutlicher Blutzuckeranstieg, der noch bei intravenösen Gaben von 0,5 mg/kg CoCl_2 regelmäßig nachweisbar ist. Die Blutzuckerwirkung ist vermutlich extrapankreatischer Natur.

7. CoCl_2 -Injektionen führen bei alloxandiabetischen Kaninchen zu keiner deutlichen Blutzuckersteigerung. Der Alloxandibetismus des Kaninchens wird durch CoCl_2 nicht beeinflusst.

8. Sichere Beziehungen zwischen A-Zellschädigung und Blutzuckeränderung durch CoCl_2 lassen sich nicht aufstellen. Die bisher aus CoCl_2 -Versuchen gewonnenen Ergebnisse dürfen nur mit größter Zurückhaltung in der Diskussion um die physiologische Bedeutung des A-Zellenhormons verwandt werden, weil die Schädigungen nicht auf die Inseln beschränkt sind und die Wirkung selbst unter verschiedenen Nagetieren erheblich differiert.

9. Fe^{++} -Salze und MnCl_2 bis 5 mg/kg intravenös verändern den Blutzucker von Kaninchen nicht. NiCl_2 führt zu einem deutlichen Blutzuckeranstieg beim Kaninchen (4–6 mg intravenös) und zu einer mäßigen A-Zelldegranulation beim Meerschweinchen (3 Tage 20mg subcutan).

Literatur.

- AVEZZU, G., u. R. LUISE: *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **27**, 1515 (1951). — BAKER B. L., A. SCHAIRER, D. J. INGLE and C. H. LI: *Anat. Rec.* **109**, 363 (1951). — BARGMANN, W.: Die LANGERHANSschen Inseln des Pankreas. *Handbuch d. mikroskop. Anat. d. Menschen*. Bd. VI, 2. Teil, 197 (1939). — BARGMANN, W., u. W. CREUTZFELDT: *Klin. Wschr.* **1949**, 268. — BENSLEY, S. H., and C. A. WOERNER: *Anat. Rec.* **72**, Suppl. 413 (1938). — BERTRAND, G., et M. MACHEBOEUF: *C. r. Acad. Sci. (Paris)* **182**, 1305 (1926); **182**, 1504 (1926). — BLATHERWICK, N. R., and M. SAHYM: *Amer. J. Physiol.* **81**, 560 (1927). — BÜRGER, M.: *Z. inn. Med.* **2**, 311 (1947). — BURKL, W.: *Acta anat. (Basel)* **12**, 358 (1951). — COLLINS-WILLIAMS, J., A. E. RENALD and A. MARBLE: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **46**, 1 (1950). — CREUTZFELDT, W.: *Z. Zellforsch.* **34**, 280 (1949); **35**, 47 (1950). — *Verh. dtsch. Ges. Path.* **1952**, **36**, 323 (1953). — *Beitr. path. Anat.* **113**, 133 (1953). — CREUTZFELDT, W., M. HUSTEN u. K. HAAGER: *Beitr. path. Anat.* **113**, 428 (1953). — ESER, S., u. P. TÜZÜNKAM: *Istanbul Contrib. Clin. Sci.* **2**, 56 (1952). — FERNER, H.: *Virchows Arch.* **309**, 87 (1942); **319**, 390 (1951). — FEYRTER, F.: *Über die peripheren endokrinen (parakrinen) Drüsen des Menschen*. Wien 1953. — GAEDE, K., H. FERNER u. H. KASTRUP: *Klin. Wschr.* **1950**, 388. — GOLDNER, M. G., B. W. VOLK and S. S. LAZARUS: *Metabolism* **1**, 544 (1952). — GOMORI, G.: *Anat. Rec.* **74**, Suppl. 1, 439 (1939). — *Amer. J. Path.* **17**, 395 (1941). — *Zit. nach WARREN, SH., u. PH. LE COMPTE: Pathology of Diabetes mellitus*. S. 58. Philadelphia 1952. — HAUSERGER, F. X., and A. J. RAMSAY: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **53**, 423 (1953). — HENDRYCH, F., u. H. WEDEN: Kobalt und Nickel. In *Handbuch d. exper. Pharmakologie*, Bd. III, 2. Teil, 1401. Berlin 1934. — HESS, W.: *Schweiz. Z. allg. Path.* **9**, 46 (1946). — HINTEREGGER, F.: *Beitr. path. Anat.* **87**, 555 (1931). — HULTQUIST, G. T., M. DAHLEN u. C. G. HELANDER: *Schweiz. Z. allg. Path.* **11**, 570 (1948). — LABBÉ, M., H. ROUBEAU et F. NEPREUX: *C. r. Acad. Sci. (Paris)* **185**, 1532 (1927). — MAGENTA, M. A.: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **98**, 169 (1928). — SCHWIEGK, G.: „Kobalt“ in „Radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie“. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1953. — STAUB, A., L. SINN and O. K. BEHRENS: *Science (Lancaster, Pa.)* **117**, 628 (1953). — SUTHERLAND, E. W., and CH. DE DUVE: *J. of Biol. Chem.* **175**, 663 (1948). — TERBRÜGGEN, A.: *Virchows Arch.* **315**, 407 (1948). — THOROGOD, E., and B. ZIMMERMANN: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **37**, 191 (1945). — TKACHENKO, L.: *J. Orient. Med.* **8**, 49 (1928). — TORESON, W. E.: *Amer. J. Path.* **27**, 327 (1951). — ULRICH, F., and D. H. COPP: *Arch. of Biochem. a. Biophysics* **31**, 148 (1951). — VAN CAMPENHOUT, E., et G. CORNELIS: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **145**, 933 (1951). — *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.* **16**, 382 (1952). — VERNE, J., et S. HEBERT: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **145**, 818 (1951). — VILLARET, M. J., J. BERTRAND, L. JUSTIN-BESANCON et R. EVEN: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **108**, 956 (1931). — VOLK, B. W., S. S. LAZARUS and M. G. GOLDNER: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **82**, 406 (1953). — VUYLSTEKE, CH. A., G. CORNELIS et CHR. DE DUVE: *Arch. internat. Physiol.* **60**, 105 (1952). — WEISSBECKER, L.: Kobalt als Spurenelement und Pharmakon. *Beih. Med. Monatsschr. Stuttgart* 1950. — WEITZEL, G., F. J. STRECKER u. V. ROESTER: *Z. physiol. Chem.* **292**, 286 (1953).

Aus der Chirurg. Univ. Klinik Göttingen (Dir.: Prof. Dr. H. HELLNER).

Experimentelle Untersuchungen über die Verteilung von Thiosemicarbacid mit Hilfe eines S³⁵ markierten Moleküls.

III. Mitteilung.

Von

K. HINRICHS, H. POPPE, H. STEYER und H. WEIDEMANN.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1954.)

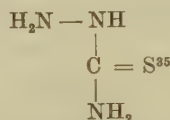
In früheren Mitteilungen wurde auf die integrierende Rolle der Nebennieren bei der Organverteilung des Contebens im Körper hingewiesen (HINRICHS u. Mitarb.). Bei der benutzten Methodik der Contebenbestimmung mit Hilfe eines in das Molekül eingebauten radioaktiven Schwefelatoms läßt sich nämlich mit Sicherheit nicht aussagen, ob der gefundene Organwert auf der Anwesenheit des intakten Contebenmoleküls oder einem, den Schwefel noch enthaltenden Abbauprodukt beruht. In den früheren Mitteilungen wurde speziell die Aufspaltung des Moleküls in aromatisches Amin und Thiosemicarbacid diskutiert.

1950 wies HEILMEYER auf mögliche Zusammenhänge und einen Angriffspunkt des Conteben im Nebennierenrindenhypophysensystem hin. Es wurde damals von ihm angenommen, daß der Organismus mit Hilfe der Magensalzsäure möglicherweise in der Lage ist, Conteben in die oben angeführten Gruppen, aromatisches Amin und Thiosemicarbacid aufzuspalten. Diese Annahme scheint eine Unterstützung in den Versuchen von STURM u. WERNITZ zu finden. In Differenzversuchen konnte nämlich festgestellt werden, daß eine bestimmte Salzsäurekonzentration in der Lage ist, die Spaltung des Contebenmoleküls herbeizuführen. So wurde z. B. bei einer Salzsäurekonzentration von p_H 1,6 gefunden, daß 15% des Contebens aufgespalten werden. Es muß also damit gerechnet werden, daß der Magensaft eines normaciden Magens etwa dieselben Spaltungsmöglichkeiten besitzt. Allerdings konnten STURM u. WERNITZ diesen Beweis nur indirekt führen, da sich die Untersuchung auf die Fähigkeit des Contebens zur Bildung von Kupferkomplexen stützt. Auch HECKNER sah in der Magensalzsäure ein wirksames Agenz. Er nahm die Entstehung freier Hydrazingruppen und deren Einwirkung auf Erythrocytenmembranen an. Auf Grund klinischer Beobachtungen sollte so die Minderung der Blutsenkungsgeschwindigkeit nach Conteben-Applikation erklärt werden.

Diese Ansicht HECKNERS läßt sich experimentell jedoch nicht beweisen. Bei unseren Untersuchungen mit radioaktivem Thiosemicarbacid konnten Aktivitätsspeicherungen in Erythrocyten niemals nachgewiesen werden. Wir haben nach Vorbehandlung mit 10×15 mg Thiosemicarbacid täglich bei 15 250 g schweren Meerschweinchen die gewaschenen Erythrocyten auf ihre Aktivität pro Gramm gewaschene Substanz nach Aufbereitung in der üblichen Weise geprüft. In jedem Fall

(Mittelwerte aus 30 Aktivitätsbestimmungen) fanden sich nur Werte im Bereich des Dunkeleffektes des Zählrohrs, nachdem die Aktivität des Serums und Waschwassers geprüft war.

Über diese Untersuchungen hinausgehend wollen wir im folgenden über die Organverteilung eines im Schwefelatom etikettierten Thiosemicarbacidmoleküls (Formel) berichten, und mögliche Zusammenhänge zu den Befunden bei Contebenmedikation diskutieren.



Meerschweinchen vertragen nur relativ kleine Mengen von Thiosemicarbacid. Die DL_{50} liegt nach einer persönlichen Mitteilung GRABS zwischen 5 und 10 mg/kg. Im Gegensatz dazu fanden wir bei unseren etwa 400 g schweren Tieren, daß 15 mg gelöstes Carbacid bei intraperitonealer Injektion noch gut, auch bei Dauermedikation bis zu 14 Tagen, vertragen wurden. Zum besseren Vergleich der Untersuchungsergebnisse bei Thiosemicarbacid- und Contebenmedikation möge Abb. 1 dienen.

Die Kurve gestattet aus den gemessenen Organaktivitäten die direkte Aussage über den Nachweis in mg/Äquiv. Conteben oder Thiosemicarbacid (I. und II. Mitteilung). Die unter Berücksichtigung der Selbstabsorption bestimmten Werte ergaben für das Carbacid eine höhere Aktivität, die sich zu der des Contebens verhielt wie 1,7 : 1. Es entsprachen somit die Aktivitätsbestimmungen den Erwartungen auf Grund der Verhältnisse der Molekulargewichte.

Die beiden Vergleiche in der obigen Kurve zeigen gleichzeitig die Proportionalität auf Grund der Atomdichte im Conteben- und Thiosemicarbacid-Molekül.

Die im folgenden vorgelegten Aktivitätsbestimmungen der einzelnen Organe stammen von Meerschweinchen im Mittelgewicht von 400 g, bei denen 1—10 mal täglich Thiosemicarbacid gelöst in physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal verabfolgt wurden. Wir haben die intraperitoneale Applikation gewählt, um Verluste durch unresorbiertes und mit dem Darm ausgeschiedenes Thiosemicarbacid zu vermeiden. In der Abb. 2

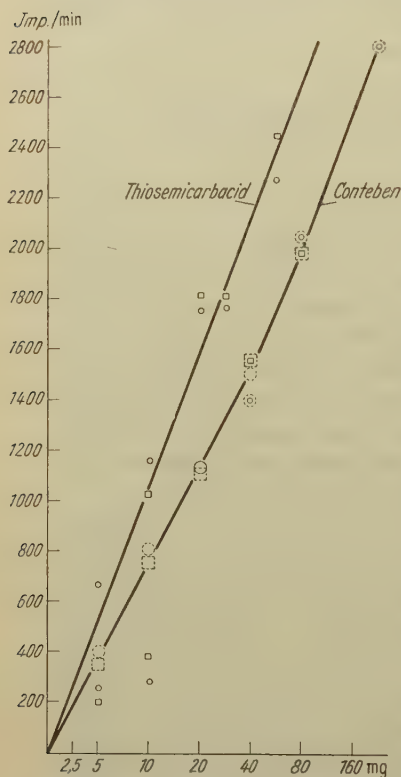


Abb. 1. Spez. Aktivität von S^{35} -Thiosemicarbacid und S^{35} -Conteben.
 ○ ○ Relative Imp. Zahl unter Berücksichtigung der Selbstabsorption bestimmte Werte.
 □ □

sind die durchschnittlichen Organaktivitäten von 30 Tieren dargestellt, die einmal 15 mg Thiosemicarbacid intraperitoneal bekamen und 24 Std nach der Applikation getötet wurden. Am auffälligsten sind auch bei dem Versuch mit Thiosemicarbacid die Aktivitätswerte in der Nebenniere. Aus der Abb. 2 ersieht man, daß im großen und ganzen ein ziemlich gleichhoher Spiegel in allen Organen auftritt. Lediglich die Werte der Nebenniere ragen um etwa das 3fache über dieses Niveau heraus. Auf der Kurve sind wegen der hohen spezifischen Aktivität die Werte in Imp./min/0,1 g Organ aufgetragen. Sie lassen daher einen direkten Vergleich mit den Kurven der I. und II. Mitteilung erst nach Umrechnung mit dem Faktor 10 zu.

Die Ergebnisse möchten wir so deuten, daß auf Grund der Wasserlöslichkeit des Thiosemicarbacids und der bei intraperitonealer Applikation gegebenen raschen Resorption in relativ kurzer Zeit ein

ziemlich gleichmäßiger Organspiegel entsteht. Lediglich die Nebenniere, die Ausscheidungsorgane und auch die Haut nehmen eine gewisse Sonderstellung ein, so daß wir für diese Organe eine spezifische Affinität des Thiosemicarbacids annehmen müssen.

Die Werte bei den Tieren, die 2, 3 und 5 Tage lang behandelt wurden, gehen aus der Abb. 3 hervor. Man erkennt daraus, daß die Speicherung des Thiosemicarbacids im Meerschweinchenkörper einer gewissen Gesetzmäßigkeit folgt. Nur die Muskulatur macht hier eine Ausnahme, indem sie während der ganzen Versuchszeit ansteigende Werte zeigt. Es kann dies darauf zurückzuführen sein, daß die hinsichtlich ihrer Funktion wenig bekannten, Plasmale (Palmitinsäureester) nach einer persönlichen Mitteilung GRABS besonders im Muskel reichlich vorkommen und als Ketoreagenzien auftreten können. Sie haben also die Möglichkeit, das Carbacid an der freien NH_2 -Gruppe zu binden.

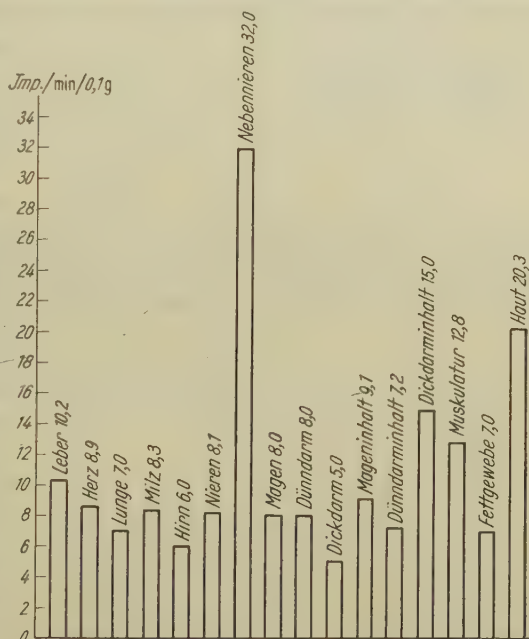


Abb. 2. Organaktivitäten 24^h nach intraperit. Appl. von ^{35}S -Thiosemicarbacid (Mittelwerte von 30 Meerschweinchen).

Der Grund für die anfangs stark ansteigende und später wieder absinkende Aktivität der Nebenniere scheint uns gleichfalls darauf hinzuweisen, daß hier die freie NH_2 -Gruppe des Thiosemicarbacids durch die Keto-Gruppen der Nebennierensteroiden abgefangen und gleichsam entgiftet wird. Diese Möglichkeit ist nach einer gewissen Zeit, bei unseren Versuchen nach etwa 72 Std, erschöpft. Die Aktivität der Nebenniere sinkt dann wieder ab, während die der Muskulatur als Zeichen der verminderten Speicherung in der Nebenniere aber ansteigt. Es sprechen also unsere Untersuchungen für die Ansicht HEILMEYERS, daß mindestens ein Teil des oral zugeführten Contebens als Thiosemicarbacid in den Körper gelangt und hier primär eine besondere Affinität zu den Nebennierensteroiden entwickelt. Welcher Art allerdings diese Reaktion ist, ob man, wie WEISSBECKER u. RUPPEL, vom Conteben als Verbrauchskatalysator der Steroide sprechen kann, kann auch mit unseren Untersuchungen letztlich nicht geklärt werden.

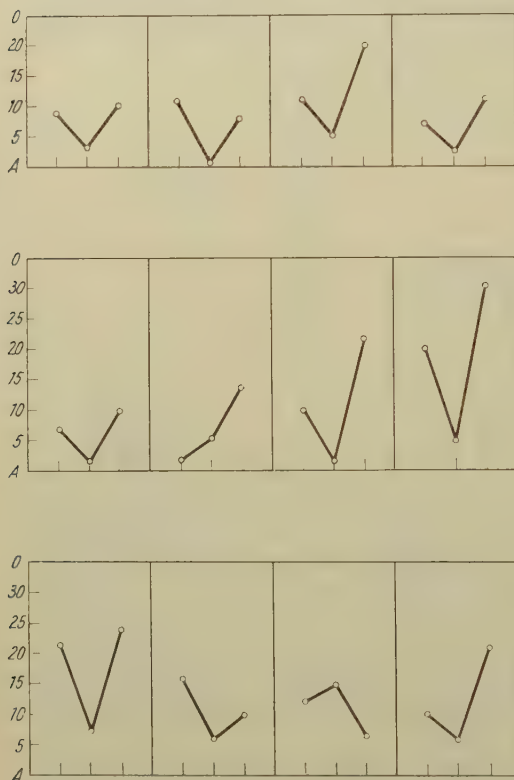


Abb. 3. Vergleich der Organaktivitäten bei verschiedenen langer Behandlungsdauer (2, 3 und 5 Tage) mit Thiosemicarbacid. O = Imp./min./O, 1g Organ. A = 2, 3, 5 mal 15 mg Thiosemicarbacid tgl. Organe in der Reihenfolge von links nach rechts und oben nach unten: Lunge, Herz, Niere, Leber, Gehirn, Muskulatur, Knochen, Blase, Nebenniere, Magen (gewaschen), Dünndarm (gewaschen), Haut.

WERNITZ u. a. vermuteten Angriffspunkte des Thiosemicarbacids an der Nebenniere werden durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt. Auf Grund der vergleichenden Untersuchungen mit dem radioaktiven 4-Acetyl-amino-benzaldehyd-Thiosemicarbazon (Conteben) und Thiosemicarbacid darf geschlossen werden, daß die Speicherung und Wirkung auf die Nebenniere im wesentlichen dem Carbacid-Rest eigen ist.

Die schon früh von HEILMEYER, STURM u.

Zusammenfassung.

In Untersuchungen mit einem radioaktiv im Schwefelatom etikettierten Thiosemicarbacid wurde die Verteilung, Resorption und Ausscheidung dieses vielfach als Abbauprodukt des Contebens diskutierten Stoffes untersucht.

Dabei wird anhand der hohen Speicherungsergebnisse in einzelnen Organen, insbesondere der Nebenniere gefolgert, daß eine Aufspaltung von Conteben möglich und die Speicherung in den Nebennieren im wesentlichen dem Carbacid eigen ist. Gleichzeitig konnte bewiesen werden, daß für Thiosemicarbacid ein Angriffspunkt an der Erythrocytenmembran nicht besteht.

Literatur.

HECKNER, F.: Klin. Wschr. 1950, 623. — Z. exper. Med. 116, 327 (1950). — HEILMEYER, L.: Klin. Wschr. 1950, 254. — HINRICHS, K., H. POPPE u. H. STEYER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 218, 193 (1953); 221, 6 (1954). — STURM, A., u. W. WERNITZ: Dtsch. med. Wschr. 1951. — WEISSBECKER u. RUPPEL: Klin. Wschr. 1952, 155.

Priv.-Doz. Dr. K. HINRICHS, Wilhelmshaven, Städt. Krankenanstalten.

Aus der Medizinischen Universitäts-Klinik, Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. R. SCHOEN).

Vergleichende Untersuchungen über die lipotrope Wirkung von Cholin und Methionin sowie einiger ihrer Verbindungen an der CCl_4 -vergifteten Ratte.

Von

FRITZ HARTMANN und ALOIS NICKEL.

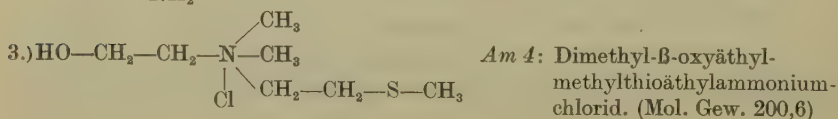
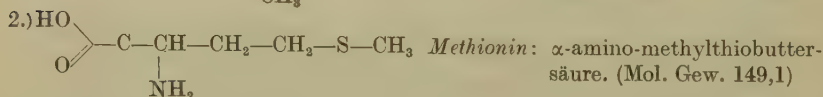
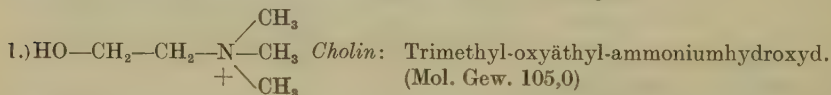
Mit 1 Textabbildung.

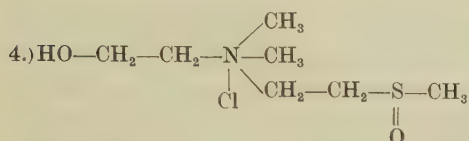
(Eingegangen am 20. Oktober 1953.)

Cholin und Methionin haben sich in der Therapie der Fettstoffwechselstörungen bei Leberkrankheiten bewährt. Das besagt nicht, daß einige ihrer Eigenschaften nicht noch der Verbesserung bedürften.

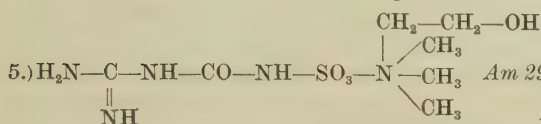
Das Cholin verursacht bei der i.v. Anwendung unangenehme Nebenerscheinungen wie Gefäßerweiterung, Blutdrucksenkung, Schock oder Darmspasmen sowie Atemkrämpfe. Seine Wirkung ist brüsk und klingt infolge schnellen Zerfalls bald ab. Für seine Wirkung im Fettstoffwechsel — Einbau in die Phosphatide Lecithin und Sphingomyelin — bedurfte es eines langanhaltenden kontinuierlich hohen Angebotes. Seine Verabreichung per os hat die gleichen Nachteile. Der unangenehme Fischlaugengeschmack kommt hinzu. Das Methionin ist ausgezeichnet verträglich. Die Therapie mit Methionin mutet der kranken Leber jedoch zu, aus 3 Methionin-Molekülen 1 Cholin-Molekül aufzubauen. Außer der labilen CH_3 -Gruppe besitzt das Methionin eine S-Gruppe, die der Leber bei ihrem Entgiftungsprozeß über die Bildung von Schwefelsäureestern zur Verfügung steht.

Es lag daher nahe, nach Verbindungen zu suchen, die die Vorteile beider Substanzen in sich vereinigten und einige Nebenwirkungen nicht aufwiesen. In den Laboratorien der Firma E. Merck, Darmstadt, wurden einige solcher Substanzen entwickelt und mit einer schon früher beschriebenen Methode (HARTMANN u. Mitarb.) an der CCl_4 -vergifteten Ratte auf ihre lipotrope Wirkung geprüft. Es handelte sich um vergleichende Untersuchung der folgenden Verbindungen:





Am 42: Dimethyl-β-oxyäthyl-
β-methylsulfoxydäthyl-
ammonium-chlorid.
(Mol. Gew. 215,6)



Am 29: Cholinsalz der Guanyl-
harnstoffsulfosäure.
(Mol. Gew. 285,1)

Jede dieser Substanzen wurde in 3 verschiedenen Dosen (0,005; 0,01; 0,025 g pro 100 g Gewicht) getestet, um größenordnungsmäßig einen Anhaltspunkt für den Bereich der Optimalwerte zu haben. Cholin wurde durch die Schlundsonde, die übrigen Verbindungen s.c. gegeben.

Ergebnisse.

Als sehr gut verträglich erwiesen sich Methionin, Am 42 und Am 49. Cholin und Am 4 werden am schlechtesten vertragen. Die Tiere zeigen gleich nach der Injektion ein unruhiges Gebaren, das sich teilweise bis zu Atemkrämpfen steigert; sie bekommen im Gegensatz zu den anderen ein rauhes struppiges Fell und magern stark ab.

Die Ergebnisse der Fettanalysen der Leber, die nach der Methode von SCHULZE durchgeführt wurden, sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Zunächst sind die Normalwerte an 30 Versuchstieren aufgeführt. Es folgen die Werte der Tiere, die 5 Tage mit 0,4 cm³ CCl₄ pro 100 g vergiftet und dann getötet wurden und schließlich die Werte der Tiere, die sich nach der Vergiftung 4 Tage bei Normalkost erholten und dann erst getötet wurden. Diese letzten Werte sind die Vergleichswerte für die während der Erholungsphase mit den verschiedenen Testsubstanzen behandelten Tiere.

Versuchs- bedingungen	Zahl der Tiere	Ges. Lip.	Phos- phatide	Neutr. Fette	freie Fetts.	K.W. + Wachse	Cholest. Ester	freies Cholest.
Normal	30	23,8	4,1	13,1	0,8	1,6	1,5	0,5
5 Tage CCl ₄	30	38,2	6,7	22,8	1,3	2,4	2,5	1,2
5 Tage CCl ₄ + 4 Tage Erholung	30	32,0	7,0	18,9	0,7	1,6	2,3	0,9
Methionin								
0,005	10	27,5	8,2	6,4	0,7	0,6	0,6	0,5
0,01	10	24,8	8,6	11,6	0,5	0,7	0,8	0,7
0,025	10	23,2	9,1	9,8	0,0	1,3	0,7	0,4
Cholin								
0,005	10	32,2	7,0	17,0	—	1,5	1,8	1,9
0,01	10	32,0	5,1	15,9	—	3,6	3,1	0,7
0,025	10	19,1	6,1	8,3	—	1,1	1,6	0,4

Versuchs- bedingungen	Zahl der Tiere	Ges. Lip.	Phos- phatide	Neutr. Fette	freie Fetts.	K.W. + Wachse	Cholest. Ester	freies Cholest.
Cholin + Methionin								
0,0025 + 0,0025	10	28,6	2,7	16,9	—	2,4	1,1	1,2
0,005 + 0,005	10	32,6	3,3	13,2	1,4	3,2	6,0	1,6
0,0125 + 0,0125	10	16,2	4,4	6,8	0,3	1,1	1,6	0,0
Am 29								
0,005	10	23,8	2,9	14,2	2,6	1,3	1,3	0,3
0,01	10	18,1	6,5	4,4	3,6	0,9	0,6	0,6
0,025	10	16,8	7,5	7,5	7,4	0,1	0,6	0,6
Am 4								
0,005	10	27,5	9,1	12,7	0,2	1,6	1,4	0,2
0,01	10	20,1	6,3	9,6	0,1	0,8	0,9	0,1
0,025	10	21,4	8,8	7,6	0,7	1,0	0,9	0,1
Am 42								
0,005	10	25,0	6,1	14,6	0,4	1,3	1,0	0,3
0,01	10	23,2	8,6	10,3	0,4	0,8	0,9	0,4
0,025	10	21,6	9,4	8,5	0,7	0,6	0,8	0,2

(Angabe der Werte in % der Trockensubstanz.)

Als bestes Kriterium der Beurteilung des Fettstoffwechsels in der Leber hat sich der Neutralfettgehalt erwiesen. Das stimmt mit der Annahme überein, daß die kranke Leber nicht mehr in der Lage ist, die angebotenen Neutralfette über die Phosphatidstufe weiter zu verwerten. Theoretisch sollte man zunächst erwarten, daß deswegen die Phosphatide absinken. Das ist aber nicht der Fall, denn auch die Phosphatide, die z.B.

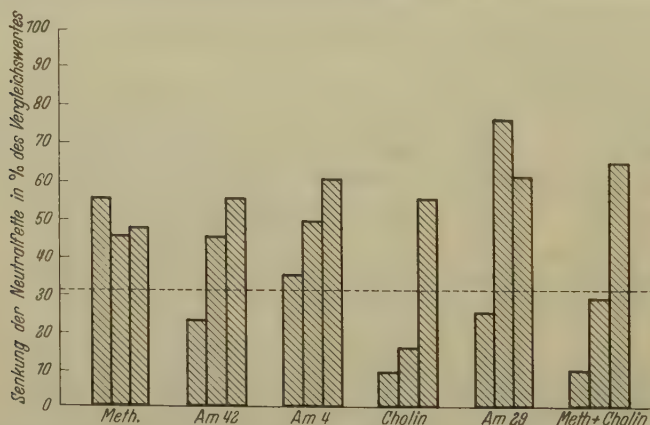


Abb. 1. Senkung der Neutralfettwerte der Rattenleber während der Erholungszeit nach CCl_4 -Vergiftung unter Einwirkung verschiedener lipotroper Substanzen. Die Angaben sind in Prozent gegenüber den Neutralfettwerten der Leber von Tieren gemacht, die keine lipotropen Substanzen in der Erholungsphase bekamen. Für jede Substanz ist der lipotrope Effekt für die 3 in der Tabelle angegebenen Dosierungen gegeben. Die gestrichelte horizontale Linie gibt den Normalwert.

im Blut kreisen, können nur von der Leber weiter verarbeitet werden. So ist es zu erklären, daß sich auch die Phosphatide in der Leber aufstauen. Die unter CCl_4 eintretende Fettstoffwechselstörung zeigt sich in einer starken Erhöhung der Gesamtlipoide. Den Hauptanteil an dieser Erhöhung haben die Neutralfette. Die Phosphatide sind nur gering erhöht. Das gleiche gilt für die freien Fettsäuren, die Kohlenwasserstoffe und Wachse, die Cholesterinester und das freie Cholesterin. Nach Absetzen des Giftes sind alle diese Vorgänge reversibel. Die Gesamtlipoide fallen ab, vor allem infolge Normalisierung des Neutralfettspiegels. Die Nebenfaktionen nähern sich ebenfalls der Norm. Lediglich die Phosphatide steigen im ersten Stadium dieser Normalisierung des Fettstoffwechsels an. Das bedeutet, daß der Abtransport der Neutralfette über die Phosphatidstufe geht.

Das Prinzip der Beurteilung der lipotropen Wirkung der in diesen Experimenten untersuchten Verbindungen beruht darauf, zu messen, welchen Einfluß diese Substanzen auf die Normalisierung der durch CCl_4 erzeugten Leberfettstoffwechselstörung haben. In der folgenden Abbildung ist der Effekt der untersuchten Verbindungen auf die Erniedrigung des Neutralfettspiegels in der Behandlungsphase graphisch dargestellt (Abb. 1).

Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegenden Experimente zeigen, daß allen untersuchten Verbindungen prinzipiell eine lipotrope Wirkung zukommt, d. h. sie senken den unter CCl_4 -Vergiftung angestiegenen Gehalt der Leber an Gesamtlipoiden und Neutralfetten. Diese Wirkung wird zum Teil verdeutlicht durch einen gleichzeitigen Anstieg der Phosphatide, wie er in den Versuchen mit Methionin, Am 4 und Am 42 deutlich wird. Jedoch ist dieser Befund nicht immer zu erheben, weil die Phosphatide, sobald sie gebildet sind, aus der Leber ausgeschwemmt werden.

Vergleicht man die Wirkung von Methionin und Cholin, so fällt zunächst auf, daß das Methionin, obwohl es nur eine CH_3 -Gruppe hat, sich bei niedriger Dosierung wirksamer als Cholin erweist. Betrachtet man die Dosisabhängigkeit der Wirkung des Methionin allein, so sieht man, daß die in diesen Experimenten gewählte Minimaldosis bereits die wirksamste ist. Sie würde, auf den Menschen übertragen, eine Dosierung von 1 g pro 20 kg Körpergewicht bedeuten. Das entspricht der in der Therapie von Leberkranken bewährten Dosis. Die Abnahme der Wirkung bei höheren Dosen steht im Einklang mit ähnlichen Ergebnissen, die REMY bezüglich des Glykogegehaltes der Leber gewonnen hat. Man mag daraus entnehmen, daß hohe Dosierungen des Methionin die Wirkung nicht mehr steigern. KALK glaubt sogar, paradoxe Wirkungen gesehen zu haben. Anders liegen die Verhältnisse beim Cholin. In dem von

uns gewählten Dosierungsbereich stieg seine Wirkung mit der Dosierung. Ob mit 0,25 g pro Kilogramm Körpergewicht bereits das Optimum erreicht ist, kann nicht gesagt werden. Die Ursache der relativ geringen Wirkung des Cholins gegenüber dem Methionin liegt wahrscheinlich in der schnellen Verarbeitung des Cholin im Stoffwechsel und in der Notwendigkeit seiner oralen Verwendung. Bis zur Entfaltung seiner Wirkung in der Leber ist wahrscheinlich ein großer Teil bereits abgebaut.

Beim Vergleich der lipotropen Wirkung der übrigen Verbindungen muß man berücksichtigen, daß sie nicht in äquimolaren Mengen verabreicht wurden. Legt man die auf Grund der hohen Molekulargewichte niedrige Dosierung zugrunde, so sind alle geprüften Substanzen sowohl dem Methionin wie dem Cholin überlegen. Für eine klinische Anwendung kommt das Am 4 nicht in Frage, da es die gleichen unangenehmen Nebenwirkungen hat wie das Cholin. Interessant ist trotzdem seine dem Cholin überlegene lipotrope Wirkung. Wahrscheinlich beruht sie darauf, daß es im Stoffwechsel schwerer angreifbar ist. Dies gilt auch für die beiden anderen Cholinverbindungen. Die größte Wirkung wurde mit dem Cholinsalz der Guanyl-Harnstoff-Sulfosäure erreicht. Es ist möglich, daß die Guanidin-Harnstoff-Komponente wie beim Sulfaguanidin als Verzögerungsprinzip wirkt. Jedenfalls kann man die vorliegenden Ergebnisse dahingehend interpretieren, daß der lipotrope Effekt von Methionin und Cholin sich noch verbessern läßt durch diejenigen ihrer Verbindungen, die die Ausnutzbarkeit der CH_3 -Gruppen für die Phosphatidsynthese steigern.

Zusammenfassung.

1. Mit einer früher beschriebenen Methode werden quantitativ vergleichende Untersuchungen über die lipotropen Effekte folgender Verbindungen durchgeführt.

Cholin, Methionin, Dimethyl- β -Oxyäthyl-methylthioäthylammoniumchlorid, Dimethyl- β -oxyäthyl- β -methylsulfoxyäthylammoniumchlorid und das Cholinsalz der Guanyl-Harnstoffsulfosäure.

2. Die beste Wirkung zeigten eine Kombination von Cholin und Methionin sowie das Cholinsalz der Guanyl-Harnstoffsulfosäure.

3. Die Ursachen der Wirkungsunterschiede werden auf Grund des chemischen Verhaltens der einzelnen Verbindungen diskutiert.

Literatur.

HARTMANN, F., R. HERTEL, G. SCHULZE u. W. WELLMER: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **214**, 152 (1952). — KALK, W.: Therapiewoche **4**, 1 (1953). — REMY, H.: Z. inn. Med. **5**, 606 (1950). — SCHULZE, G., u. H. SÜDHOFF: Pflügers Arch. **258**, 211 (1953).

Priv.-Doz. Dr. FRITZ HARTMANN, Göttingen, Med. Univ.-Klinik.

Aus der Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Frhr. v. KRESS).

Papierelektrophoretische Untersuchung der Bindung von radioaktivem Biliselektan an Serumalbumin.

Von

K. OEFF.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Januar 1954.)

Bei Untersuchungen über das Schicksal von radioaktivem Biliselektan im Körper von Gesunden und von Kranken mit Leberschädigung (OEFF u. a.), blieb ungeklärt, wieweit die Plasmaeiweißverhältnisse die anteilmäßige Ausscheidung der Leber bzw. der Niere beeinflussen. Nach BENNHOLD soll Biliselektan — wie viele andere Substanzen — von den Albuminen gebunden werden; quantitative Angaben für einen größeren Konzentrationsbereich liegen jedoch nicht vor. Wir haben daher in vitro die Bindung des Biliselektans an die Serumeiweißfraktionen bei verschiedenen Konzentrationen untersucht.

Es wurde J^{131} -Biliselektan¹ (Molekulargew. = 492) als Natriumsalz in verschiedenen Konzentrationen bei Raumtemperatur (20°) zu 1 cm³ Blutserum hinzugesetzt. Das Serum hatte einen Eiweißgehalt von 7,5 g% und ein normales Eiweißspektrum mit 61,5% Albumin. Nach 10 min und nach mehreren Stunden wurden zweimal je 0,028 cm³ des Serum-Biliselektan-Gemisches nebeneinander auf einen breiten Filterpapierstreifen aufgetragen. Dann wurde 2, 4 bzw. 9 Std die Elektrophorese durchgeführt bei 6 mA, 160 V und mit Veronal-Natrium-Puffer (pH 8,8; $\mu = 0,06$). Anschließend wurde der Papierstreifen längs geteilt und die eine Hälfte des Streifens zur Lokalisierung der Eiweißfraktionen mit Bromphenolblau gefärbt, die andere Hälfte zur Bestimmung der Radioaktivität verwandt. Die Messung der Aktivität erfolgte mit einem Geiger-Müller-Zählrohr, an dem der Streifen millimeterweise vorbeigeführt wurde. Bei mehreren Versuchen haben wir außerdem die Aktivität durch photometrische Auswertung des Autoradiogramms des betreffenden Streifens ermittelt. Die Flächen unter den ermittelten Aktivitätskurven wurden planimetriert. Einzelheiten der Auswertung von elektrophoretischen Untersuchungen mit radioaktiven Substanzen wurden an anderer Stelle ausführlich dargestellt (OEFF).

Die Wanderungsgeschwindigkeit von Albumin betrug bei der angewandten Methodik etwa 1,3 cm/Std, für Biliselektan (ohne Serum) 1,9 cm/Std und für anorganisches Radiojod 5 cm/Std. In Abb. 1 sind die gefärbten Eiweißfraktionen (oberer Streifen) mit dem dazugehörigen Autoradiogramm (unterer Streifen) sowie die Ergebnisse der Aktivitätsmessung und der photometrischen Bestimmung der Eiweißfraktionen

¹ Herrn Prof. JUNKMANN von der Firma Schering A.G., Berlin, danken wir für die Herstellung und Überlassung des Präparates.

von einem biliselektanhaltigen Serum wiedergegeben, dem zu Demonstrationszwecken anorganisches J^{131} zugesetzt worden war. Die Bili-selektankonzentration in dem Serum war 254×10^{-5} Mol/Lit.: der größere Anteil liegt daher ungebunden vor. Die Dauer dieser Elektro-phorese betrug 2 Std. Ein Teil von dem Jodid ist an der Auftrage-stelle liegengeblieben.

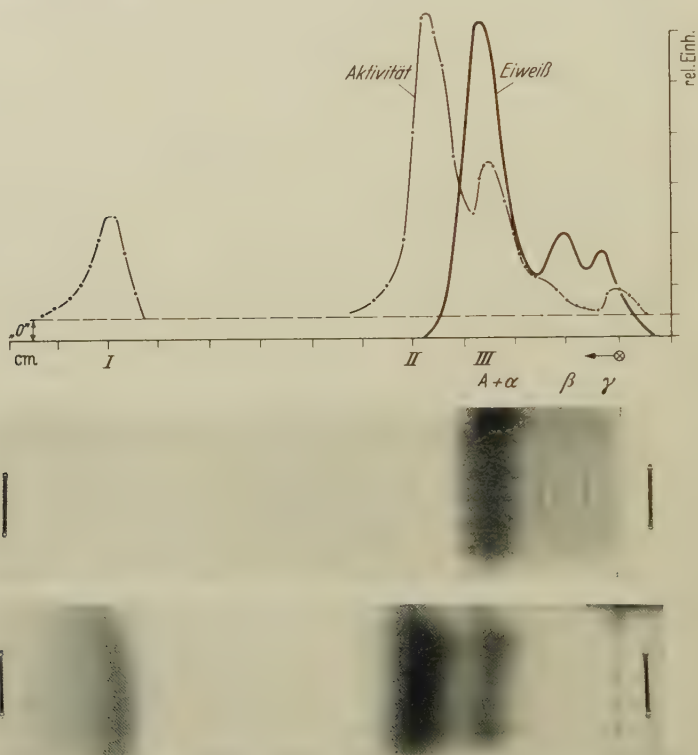


Abb. 1. Relative Wanderungsgeschwindigkeit von Jodid (I) und von freiem (II) und gebundenem (III) Biliselektan.

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, hat ein Teil des Biliselektans die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit wie das Albumin, während ein anderer Teil schneller wandert, und zwar mit der gleichen Geschwindigkeit wie das Biliselektan ohne Serum. Es darf also angenommen werden, daß ein Teil des Biliselektans an das Albumin gebunden ist und von ihm transportiert wird, während der andere Teil frei gelöst ist. Das Verhältnis von freiem zu gebundenem Biliselektan ändert sich in charakteristischer Weise mit der Konzentration. In dem von uns untersuchten Konzentrationsbereich von 0,98 mg bis 1000 mg Biliselektan pro 100 ml Serum fanden wir, daß mit steigender Konzentration der prozentuale Anteil

des gebundenen Biliselektans abfällt (Tab. 1). Wird die pro Gramm Albumin gebundene Biliselektanmenge als Funktion der Konzentration

Tabelle 1. Die Bindung von J^{131} -Biliselektan (B.) durch Humanalbumin.

Temperatur 20°. Eiweißkonzentration 7,5 g%, davon 4,62 g Albumin. Papier-elektrophorese: Munktell-Papier Nr. 20/150, Veronal-Natrium-Puffer, pH 8,8, μ 0,06, 160 V, 6 mA.

Gesamt-B. in Mol/Lit. ($\times 10^{-5}$)	Ungebund. B. (a) gebund. B.	Gebund. B. in Mol/Lit. ($\times 10^{-5}$)	Mol gebund. B.	
			pro Gramm Albumin ($\times 10^{-5}$)	pro Mol Albumin (b)
2035	$16,65 \pm 4,51$	115	24,9	1,72
1017	$8,89 \pm 1,85$	103	22,3	1,54
508	$4,52 \pm 0,33$	92,4	20,0	1,38
254	$3,42 \pm 0,97$	57,5	12,46	0,86
127	$1,95 \pm 0,23$	43,1	9,33	0,64
63,5	$1,39 \pm 0,28$	26,6	5,75	0,40
31,8	$0,88 \pm 0,12$	16,9	3,66	0,25
15,9	$0,51 \pm 0,05$	10,5	2,28	0,16
8,0	$0,29 \pm 0,07$	6,2	1,34	0,09
2,0	$0,17 \pm 0,03$	1,7	0,37	0,03

(a): Mittelwert aus 7 Versuchen $\pm \sigma$.

(b): Bei einem Molekulargewicht des Albumins von 69000 (COHN u. a.).

des nichtgebundenen Biliselektans dargestellt, so entsteht eine Exponentialkurve (Abb. 2), deren Verlauf für niedrigere Konzentrationen durch

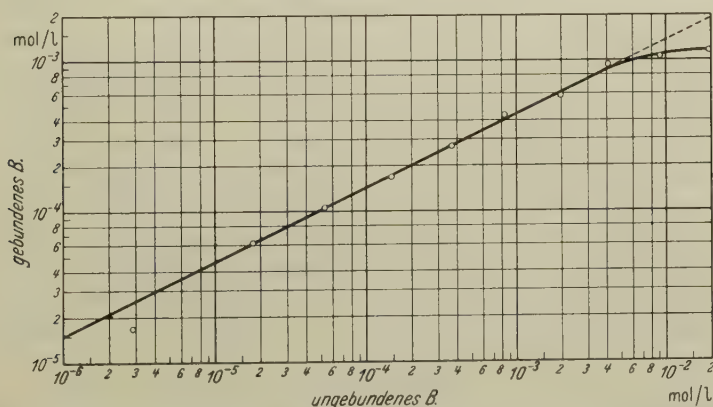


Abb. 2. Bindung von J^{131} -Biliselektan durch Humanalbumin. Darstellung der FREUNDLICHschen Adsorptionsisotherme.

die FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme angegeben werden kann. Bei höheren Konzentrationen tritt jedoch der bekannte Sättigungseffekt an der Oberfläche des Adsorbens — hier des Albumins — auf, so daß trotz

steigender Konzentration des ungebundenen Biliselektans die gebundene Menge nicht mehr zunimmt. Dieses Verhalten wird durch die LANGMUIRSche Adsorptionsisotherme wiedergegeben:

$$\frac{1}{r} = \frac{K}{n \cdot [A]} + \frac{1}{n} \quad (1)$$

wobei r — Mole gebundenes Biliselektan pro Mol Albumin, K = Dissoziationskonstante des Albumin-Biliselektankomplexes, n = der Grenzwert der Gleichung, wenn $[A] \rightarrow \infty$, d. h. die Zahl der maximal gebundenen Biliselektanmoleküle pro 1 Albuminmolekül, und $[A]$ — die molare Konzentration von ungebundenem Biliselektan.

Wenn nach dem Vorschlag von KLOTZ $[A]/r$ gegen $[A]$ aufgetragen wird (Abb. 3), so ergibt die Neigung der Geraden entsprechend der in folgende Form umgewandelten Gleichung (1)

$$\frac{[A]}{r} = \frac{1}{n} [A] + \frac{K}{n} \quad (2)$$

den Wert $1/n$ und ihr Abschnitt auf der Ordinate den Wert K/n an. Nach der Methode der kleinsten Quadrate wurden folgende Werte errechnet: $n = 1,87$ und $K = 1,73 \times 10^{-3}$.

Durch weitere Messungen mußte geklärt werden, ob die Adsorption von Biliselektan oder dem Biliselektan-Albuminkomplex an das Filter-

papier einen Einfluß auf die angegebenen Konstanten hat. Die orientierenden Untersuchungen ergaben, daß bei der Papierelektrophorese von Biliselektan allein (d. h. ohne Protein) ein kleiner Teil gleich an der

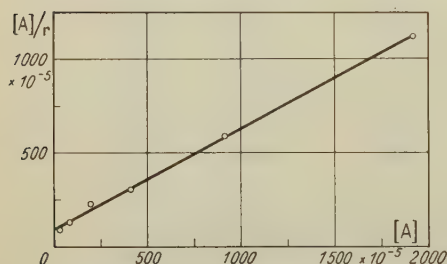


Abb. 3. Bindung von J^{131} -Biliselektan durch Humanalbumin. Darstellung der LANGMUIRSchen Adsorptionsisotherme (Verfahren nach KLOTZ).

Tabelle 2. Adsorption von Biliselektan an das Filterpapier.

Aufgetragene Menge B. (mg)	Adsorbierte Menge	
	an Auftragestelle (mg)	zwischen Auftragestelle und B.-Maximum (mg/cm ² -Papier)
0,5	$3,8 \times 10^{-3}$	$0,10 \times 10^{-3}$
1,0	$8,3 \times 10^{-3}$	$0,17 \times 10^{-3}$
2,0	$14,6 \times 10^{-3}$	$0,27 \times 10^{-3}$
4,0	$24,9 \times 10^{-3}$	$0,67 \times 10^{-3}$

Auftragestelle, ein anderer Teil während der elektrophoretischen Wanderung vom Papier adsorbiert wurde (Tab. 2). Wie zu erwarten, ließ sich auch die Adsorption an das Papier durch die Adsorptionsisotherme ausdrücken.

Im Gegensatz dazu ist bei der 9stündigen Elektrophorese des Biliselektan-Serumgemisches bis zur unteren Grenze der Nachweisbarkeit

von radioaktivem Biliselektan ($7,7 \times 10^{-5}$ mg/cm² Filterpapier) weder an der Auftragestelle noch zwischen Auftragestelle und Biliselektan-Albuminkomplex Aktivität vorhanden. Eine Beeinflussung der ermittelten Bindungskonstanten durch die Papieradsorption ist daher bei höheren Konzentrationen nicht anzunehmen. Für die beiden niedrigsten Konzentrationen (3,9 bzw. 0,98 mg%) ist sie nicht auszuschließen, da bereits 7 bzw. 28% der vorhandenen Aktivität unterhalb der Nachweisbarkeit liegen.

Die Zahl der an ein Albuminmolekül maximal gebundenen Biliselektanmoleküle ist mit 1,87 verhältnismäßig klein. Von dem von verschiedenen Autoren untersuchten Methylorange werden z. B. pro Albuminmolekül 13,8 (COGIN u. DAVIS) bis 22,6 (KLOTZ u. a., SMITH u. BRIGGS) gebunden. Diese Untersuchungen wurden jedoch mit reinen Albuminpräparaten und bei geringerer Eiweißkonzentration durchgeführt. Wahrscheinlich führen die von uns gewählten Bedingungen, die in bezug auf die Eiweißkonzentration und die Wechselwirkung der Fraktionen untereinander mit den Bedingungen im strömenden Blut möglichst übereinstimmen sollten, zu einer „Abdeckung“ mehrerer Bindungsorte am Albuminmolekül. Daher ist die ermittelte Zahl der maximal gebundenen Biliselektanmoleküle nicht der im Albuminmolekül tatsächlich vorhandenen Zahl der Bindungsorte gleichzusetzen. Auch Unterschiede in pH und Art des Puffers könnten zu der Inkongruenz der Werte für n und K beigetragen haben; vergleichende Untersuchungen liegen noch nicht vor. Die Wirkung der Temperatur auf die Bindungsfähigkeit der Proteine ist nur gering (KLOTZ und URQUART).

Die am Menschen bei Biliselektananwendung beobachteten Konzentrationen (BILLION und OEFF) liegen zumeist in einem Bereich, in dem in vitro das eiweißgebundene Biliselektan überwiegt.

Zusammenfassung.

Bei der papierelektrophoretischen Untersuchung der Bindung von J¹³¹-markiertem Biliselektan an Serumalbumin wurde gefunden, daß sich mit Änderung der Konzentration das Verhältnis von gebundenem zu ungebundenem Biliselektan fortlaufend ändert und daß diese Funktion durch die Adsorptionsisotherme beschrieben werden kann. Die Zahl der von einem Albuminmolekül maximal gebundenen Moleküle beträgt 1,87, die Dissoziationskonstante des Albumin-Biliselektan-Komplexes $1,73 \times 10^{-3}$. In Konzentrationsbereichen, wie sie am Menschen bei Biliselektananwendung auftreten, überwiegt die eiweißgebundene Fraktion des Biliselektans.

Literatur.

BENNHOLD, H., H. OTT u. M. WIECH: Über den Bindungsunterschied lebergängiger und nierengängiger Substanzen an die Serum-eiweißkörper. Dtsch. med. Wschr. 1950, 11. — BILLION, H., u. K. OEFF: Verteilung und Ausscheidung von radioaktivem Biliselektan. In Vorbereitung. — COGIN, G. E., u. B. D. DAVIS: Competition in the binding of long chain fatty acids and methyl orange to bovine serum albumin. J. Amer. Chem. Soc. 73, 3135 (1951). — COHN, E. J., W. L. HUGHES jr., und J. H. WEARE: Preparation and properties of serum and

plasma proteins. XIII. Crystallization of serum albumins from ethanol-water mixtures. J. Amer. Chem. Soc. **69**, 1753 (1947). — KLOTZ, I. M.: The application of the law of mass action to binding by proteins. Interactions with calcium. Arch. Biochem. a. Biophysics **9**, 109 (1946). — KLOTZ, I. M., u. J. M. URQUHART: The binding of organic ions by proteins: effect of temperature. J. Amer. Chem. Soc. **71**, 847 (1949). — KLOTZ, I. M., F. M. WALKER u. R. B. PIVAN: The binding of organic ions by proteins. J. Amer. Chem. Soc. **68**, 1486 (1946). — OEFF, K.: Umsatz von radioaktiven Serumeiweißfraktionen. I. Methodische Grundlagen. Z. exper. Med. **123**, 294 (1954). — OEFF, K., W. FROMMHOLD, F. A. PEZOLD u. A. SCHUCHTER: Zum Problem einer Funktionsprüfung der Leber mit radioaktivem Biliselektan. Klin. Wschr. **1953**, 123. — SMITH, R. F., u. D. R. BRIGGS: Electrophoretic analysis of protein interaction. I. The interaction of bovine serum albumin and methyl orange. J. Physic. Colloid Chem. **54**, 33 (1950).

Dr. K. OEFF, I. Med. Klinik d. Freien Universität, Berlin-Charlottenburg,
Spandauer Damm.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. F. EICHHOLTZ).

Bubble flow meter mit automatischer Registrierung.

Von

W. BRAUN, K. H. ALTHOFF und R. TAUGNER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Februar 1954.)

Bei der methodischen Durcharbeitung des kürzlich von BEGOVIĆ und STERN beschriebenen Herz-Lungen-Präparates der Ratte ergab sich die Notwendigkeit, die Förderleistung des Herzens mit einem diesen besonderen Anforderungen genügenden Verfahren zu messen. Da sich die hierzu verwendete Anordnung ganz allgemein zur Registrierung arterieller und venöser Durchströmungsgeschwindigkeiten eignet, erscheint es gerechtfertigt, sie hier in Kürze mitzuteilen.

Abgesehen von der kostspieligen Thermostromuhr, welche allerdings an un-eröffneten Gefäßen mit beachtlichen Fehlerquellen belastet sein soll, ist man bei der Durchflußmessung auf blutige Verfahren angewiesen. Einige davon leiten sich vom Prinzip der LUDWIGSchen Stromuhr ab (WEESE, LU u. MELVILLE, DAVES, MOTT u. VANE). Der Nachteil dieser Methoden besteht zum Teil darin, daß sie für kleinere Versuchsobjekte ungeeignet erscheinen, andererseits darin, daß sie durch Einbringung von Widerständen für Messungen auf der venösen Seite des Kreislaufs ausscheiden. Das Venturimeter wird in seiner Genauigkeit durch Veränderungen der Blut-Viscosität beeinträchtigt und verlangt zeitraubende Eichungen. Auch das verbesserte Rotameter von SHIPLEY u. WILSON ist bei niedrigen Durchflußgeschwindigkeiten viscositäts-abhängig.

Diese Nachteile entfallen weitgehend bei dem erstmals von SOSKIN angegebenen, später von DUMKE u. C. F. SCHMIDT verfeinerten bubble flow meter. Im folgenden wird ein Versuch mitgeteilt, dieses wertvolle Verfahren mit einfachsten Hilfsmitteln zur automatischen Registrierung einzurichten (vergl. auch WINDER u. Mitarb.).

Die selbsttätige Durchflußmessung nach dem Prinzip des bubble flow meter erfordert a) die automatische Einbringung der Luftblasen und b) die automatische Registrierung der Blasen-Laufzeit. Prinzipiell wäre dies auf zwei verschiedenen Wegen zu erreichen: 1. *Einbringung der Blasen in konstanten Zeitabständen*, unabhängig von ihrer Laufzeit; Registrierung der Blasen-Laufzeit zwischen Kontrollpunkt 1 (eventuell Ort der Blasen-einbringung) und Kontrollpunkt 2 mit Zeitordinatenschreiber (BAUMGARTNER, GRUPP u. JANSSEN); 2. *Einbringung der Blasen in Abhängigkeit von ihrer Laufzeit*, wobei die Passage eines (einzigen) Kontrollpunktes

Durchflußgeschwindigkeiten und großem Binnendruck (arterielles System) von Bedeutung. Wir verwendeten Fahrradventile mit Kondomgummiüberzug und hielten den toten Raum derselben möglichst klein.

Die gesamte Anordnung ist in Abb. 2 skizziert. Die Anzahl der eingebrachten Luftblasen wurde mit Hilfe eines JAQUETSchen Ordinatenschreibers aufgezeichnet, wobei, über R_1 geschaltet, ein Spannungsimpuls auf den Eingang des Verstärkers gegeben wurde. Da die Luftblasen in Abhängigkeit von ihrer Laufzeit eingebracht werden, entspricht jeder Kolbenhub einer Füllung der blutführenden Meßstrecke. In Abb. 3 ist ein Anwendungsbeispiel am Herz-Lungen-Präparat der Ratte wiedergegeben.

Kolbenhub und Ausmaße des blutführenden Systems können mit wenigen Handgriffen je nach Größe des Versuchsobjekts und der zu erwartenden Durchblutung variiert werden. Wir bestimmten die Fehlerbreite der Methode an einem Röhrensystem mit der lichten Weite von $3\frac{1}{2}$ mm und einem Fassungsraum von 8 cm^3 . Die Durchflußgeschwindigkeit wurde zwischen 3 und $150 \text{ cm}^3/\text{min}$, der Binnendruck zwischen 0 und 160 mm Hg variiert. Die Blasengröße betrug $0,25 \text{ cm}^3$. Bei Verwendung rot gefärbter physiologischer Kochsalzlösung ergab sich, daß Variationen des Binnendruckes ohne Einfluß auf die Meßergebnisse waren. Während bei Durchflußgeschwindigkeiten bis zu $20 \text{ cm}^3/\text{min}$ das exakte Volumen der Meßstrecke (8 cm^3) einer Blasen-Laufzeit entsprach, flossen bei der Geschwindigkeit von $150 \text{ cm}^3/\text{min}$ zwischen 2 Blasen nur $7,6 \text{ cm}^3$ (entsprechend -5%). Der Fehler stieg mit zunehmender Durchflußgeschwindigkeit annähernd linear an. Wurde im gleichen Verfahren Blut zur Eichung verwendet, so betrug die Abweichung bei einem Durchfluß von $150 \text{ cm}^3/\text{min}$ $-6,2\%$. Da es sich um systematische Fehler handelt, besteht die Möglichkeit, die gemessenen Werte durch Eichkurven zu korrigieren. Dies erschien für unsere Zwecke überflüssig, da am Herz-Lungen-Präparat der Ratte nie mit derart großen, bei der oben geschilderten Eichung künstlich erzeugten Veränderungen der Durchflußgeschwindigkeit zu rechnen ist: Wir bestimmten das während einer Blasen-Laufzeit fließende Blutvolumen für die zu erwartende minimale und maximale Geschwindigkeit und setzten das Mittel aus

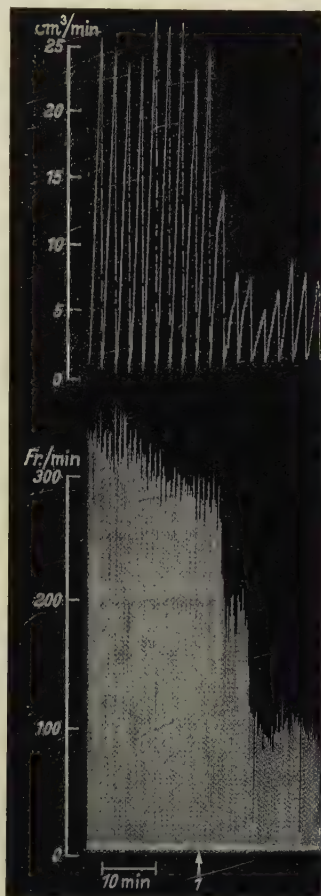


Abb. 3. Herz-Lungen-Präparat einer Ratte im Gewicht von 200 g, nach BEGOVIĆ u. STERN. Oben: Minutenvolumen; unten: Herzfrequenz. (Registrierung der Frequenz mit Tropfenzähler von JAQUET; Impulsgebung durch Übertragung des systolischen Druckstoßes auf das Kristallmikrophon; bei entsprechender Dämpfung der Druckamplitude auch an größeren Tieren anwendbar.) 1 = 20 mg Pernocton/ 10 cm^3 Blut.

beiden Werten in den Maßstab unserer Kurven ein (Abb. 3). Dieses Verfahren ist wohl für die meisten Versuchsanordnungen zulässig: Bei dem oben angeführten System würde der Fehler bei Annahme eines mittleren Meßstreckenvolumens von $7,65 \text{ cm}^3$ (für Blut) und bei Schwankungen der Durchblutungsgröße zwischen 3 und $150 \text{ cm}^3/\text{min}$ im Höchstfall $3,2\%$ betragen.

Zusammenfassung.

Es wird ein mit einfachen Hilfsmitteln erstellbares, selbsttätiges bubble flow meter beschrieben, dessen Prinzip in der automatischen Einbringung von Luftblasen in Abhängigkeit von der Blasen-Laufzeit besteht. Die Anordnung liefert absolute Werte für arterielle und venöse Durchströmungsgeschwindigkeiten. Schwankungen der Durchflußgeschwindigkeit um das 50fache können mit einer Fehlerbreite von $\pm 3,2\%$ registriert werden.

Herrn Prof. Dr. F. EICHHOLTZ sind wir für die großzügige Förderung der Arbeit, Herrn Institutsmechaniker L. FASSNER für technische Hilfeleistung sehr zu Dank verpflichtet.

Literatur.

BAUMGARTNER, G., G. GRUPP u. S. JANSSEN: Verh. Pharm. Ges. Bonn 1953, Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **222**, 251 (1954). — BEGOVIĆ, S., u. P. STERN: Das Cardio-pulmonalpräparat der Ratte. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **219**, 333 (1953). — DAVES, G. G., I. C. MOTT and I. R. VANE: The density flowmeter, a direct method for the measurement of the rate of blood flow. J. of Physiol. **121**, 72 (1953). — DUMKE, P. R., and C. F. SCHMIDT: Quantitative measurements of cerebral blood flow in the Macaque Monkey. Amer. J. Physiol. **138**, 421 (1942/43). — LU, F. C., and K. I. MELVILLE: A new apparatus and procedure for continuous registration of changes in coronary flow concurrently with changes in heart contractions. J. of Pharmacol. **99**, 277 (1950). — SHIPLEY, R. E., and C. WILSON: On improved recording rotameter. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **78**, 724 (1951). — SOSKIN, S., W. S. PRIEST and W. J. SCHÜTZ: The influence of epinephrin upon the exchange of sugar between blood and muscle. Amer. J. Physiol. **108**, 107 (1934). — WEESE, H.: Eine mechanische, automatisch registrierende Stromuhr für den geschlossenen Kreislauf. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **166**, 392 (1932). WINDER, C. V., J. WAX, and R. W. THOMAS: Stable precision in a readily assembled, continuously recording photoelectric bubble flow meter. J. of Labor. a. clin. Medic. **42**, 766 (1953).

Dr. K. H. ALTHOFF, Physikal. Inst. d. Univ. Heidelberg,
Dr. W. BRAUN und Dr. R. TAUGNER, Pharmacol. Inst. d. Univ. Heidelberg.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN).

Gegenüberstellung von blockierenden und deblockierenden Substanzen am Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte*.

I. Mitteilung.

Von

W. RUMMEL und R. SCHULZ.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. März 1954.)

Bei der verwirrenden Vielfalt gerade der neueren Befunde über die Wirkung blockierender und deblockierender Substanzen scheint es zunehmend weniger möglich, daß eine umfassende Einteilung gefunden werden kann¹. Nicht nur von Tierart zu Tierart kann sich der Charakter der Wirkweise eines Stoffes wesentlich ändern, sondern auch von Muskel zu Muskel bei ein und demselben Tier. Außerdem kommt es vor, daß sich die Art der Wirkung einer Substanz in einer zweiten Phase von ihrer anfänglichen grundsätzlich unterscheidet^{15, 22, 29}. Ihre depolarisierenden Eigenschaften verschwinden z. B., und der Mechanismus schlägt in einen kompetitiven um, gegen den sich nun depolarisierende Stoffe als Antagonisten wirksam erweisen.

Ein Weg, wenigstens mit Gültigkeit für ein Nerv-Muskel-Präparat, zu einer gewissen Ordnung der Stoffe der Natur ihrer Wirkung nach zu gelangen, ist der, Substanzen mit unbekanntem Wirkungsmechanismus solchen mit bekanntem gegenüberzustellen. Die Endplattenwirkung des Äthanols z. B. und der depolarisierende Charakter dieser Wirkung wird evident im reziprok antagonistischen Verhalten zwischen Curare und Äthanol²³.

Die von GRUBER¹³ und ORBELI²¹ entdeckte Wirkung des Adrenalins am Skelettmuskel ist augenblicklich noch, was den Angriffspunkt und die Natur der Wirkung anbelangt, umstritten und schwer einzuordnen. Ursprünglich wurde von GUGLIEMETTI¹⁴ die Ansicht geäußert, Adrenalin wirke auf die neuromuskuläre Zwischensubstanz. MICHOL¹⁹ vertrat später die Anschauung, es wirke auf die Muskelfaser. BÜLBRING u. BURN⁵ gelangten dann aber auf Grund ihrer damaligen Untersuchungen wieder zu der Ansicht, daß Adrenalin hauptsächlich an der Endplatte angreife und dort die Überleitung erleichtere. Das Ergebnis erneuter Beschäftigung mit dem Problem veranlaßte BROWN, BÜLBRING u. BURN⁴, ihre

* Herrn Professor P. HOFFMANN zum 70. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

Aussage dahin zu ändern, daß die Wirkung auf die Endplatte, wenn überhaupt eine, so eine untergeordnete Rolle spiele. Bei der Diskussion des Wirkungsmechanismus ist es die Tatsache, daß Adrenalin Kalium freisetzt^{9, 16, 20, 24} und daß der Einfluß von Adrenalin auf die Kontraktion in KCl-freiem Milieu besonders kräftig ist¹², die die Vermutung nahelegt, Adrenalin wirke mittelbar durch eine Änderung der Kalium-Verteilung am Muskel.

Die Experimente, die dieser I. Mitteilung zugrunde liegen, beschränken sich darauf, zur Klärung der Frage nach Angriffspunkt und Wirkweise des *Adrenalin* am quergestreiften Muskel (Rattenzwerchfell) beizutragen.

Methode.

Als Versuchsobjekt diente das Zwerchfell-Phrenicus-Präparat der Ratte nach BÜLBRING⁶. Es wurde die von TAUGNER u. FLECKENSTEIN²⁶ modifizierte Tyrodelösung verwendet, das Gefäßvolumen betrug 25 ml, die Temperatur 38° C. Bei Lähmung durch Calciumentzug wurde auf eine Ca-freie Tyrodelösung umgestellt und vor Versuchsbeginn damit zunächst gründlich gespült. Zur Reizung wurde das Reizgerät der Elektromedizinischen Werkstätten Hamburg benutzt. Die Form der Impulse war rechteckig, die Frequenz betrug 10 Reize/min, die Dauer lag zwischen 2 und 10 msec, die Stärke zwischen 15 und 30 mAmp (15–30 V). Die Umschaltung des Reizes vom Nerv auf den Muskel erfolgte alle 30 sec; sie wurde ermöglicht durch einen automatischen Umschalter, der von einer JAQUET-Uhr gesteuert wurde, die gleichzeitig die Zeitschreibung besorgte. Als Elektroden für den direkten (Muskel-) Reiz dienten ein Platinhacken (Zuleitung isoliert bis auf die Spitze wie bei den beiden Nerv-Elektroden), an dem das Zwerchfell am Rippenbogen aufgespießt wurde, und ein zweites Platinhackchen, an dem gleichzeitig die Verbindung mit dem Schreibhebel befestigt war.

Die direkten Reize waren aus technischen Gründen meistens nicht supramaximal (da nur eine Stromquelle für beide Reize zur Verfügung stand). Die Gesamtzahl der zugrunde liegenden Versuche beträgt 50.

Ergebnisse.

Adrenalin (50–200 γ % Suprarenin-Bitartrat, Hoechst) vermag eine *Kalium*lähmung teilweise oder nahezu völlig, je nach dem Grad der Lähmung, wieder aufzuheben. Die Lähmung wurde durch Erhöhen der

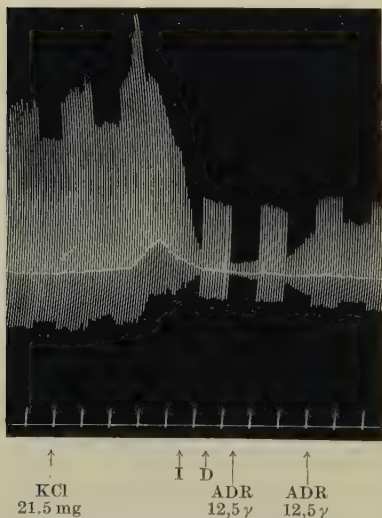


Abb. 1. *ADR* Adrenalin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 10 msec; Impulsstärke 20 mAmp (20 V). Wechsel indirekt/direkt alle 60 sec.

I indirekter Reiz; *D* direkter Reiz.

KCl-Konzentration auf 105–118 mg% (mit einer isotonischen KCl-Lösung) erzeugt. Wie Abb. 1 zeigt, kann initial die sonst von niedrigeren

KCl-Konzentrationen bekannte Verstärkung der Zuckungen — hier außerdem mit einer Kontraktur verbunden — beobachtet werden, ehe sich die Lähmung ausbildet. Die indirekte Zuckung ist weit stärker reduziert als die direkte. Das kann man bei Kalium in dieser Deutlichkeit zwar nicht regelmäßig, aber doch bisweilen beobachten. Der Versuch demonstriert damit, daß selbst gegenüber Kalium unter gewissen Bedingungen die Endplatte empfindlicher als Muskel und Nerv ist. In diesem Falle wird darum auch die bevorzugte Restitution der indirekten Zuckung durch Adrenalin besonders deutlich sichtbar.

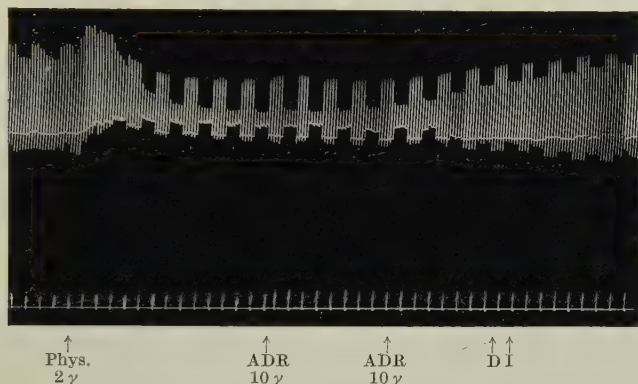


Abb. 2. *Phys.* Physostigmin; *ADR* Adrenalin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 1 msec; Impulsstärke 25 mAmp (25 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. *I* indirekter Reiz; *D* direkter Reiz.

Der Antagonismus gegen die Kaliumlähmung ist aufschlußreicher für den Mechanismus als für die Frage nach dem Angriffspunkt. Die Verwendung von Substanzen mit spezifischer *Endplattenwirkung* mußte daher für die Frage nach dem Angriffspunkt interessanter erscheinen. Es wurden zunächst ihrer Natur nach als depolarisierend geltende Verbindungen verwandt. Ein *Physostigmin*- und ein *Prostigmin*-Block (Dimethylcarbaminsäureester des m-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfat) lassen sich bis zu 100% durch Adrenalin aufheben. Physostigmin und Prostigmin wurden dabei in Konzentrationen von 100–150 $\gamma\%$ angewendet, Adrenalin ebenfalls. Als Beispiel wurde in Abb. 2 nur ein Versuch mit Physostigmin herausgegriffen. Er zeigt besonders deutlich die bevorzugte Restitution der indirekten Zuckung.

Eine *Decamethonium*-Lähmung kann durch Adrenalin auch wieder beseitigt werden. Die angewandten C_{10} -Konzentrationen lagen um 1 mg%, Adrenalin um 100 $\gamma\%$. C_{10} besitzt nur am frischen Präparat seine Wirkung, die bei Wiederholung rasch verloren geht. Auch hier wird, wie Abb. 3 zeigt, wieder die indirekte Zuckung, bezogen auf den Tiefpunkt der Lähmung, prozentual durch Adrenalin besonders stark beeinflusst.

Diese antagonistische Wirksamkeit besaß Adrenalin außerdem noch gegen Lähmungen mit *Succinylcholin* (Succinyl-Asta = Bis-cholin-succinat-dijodid), *Nicotin* und Tensilon (La Roche (3-hydroxyphenyl)dimethyläthylammoniumchlorid). (Die Befunde, die wir mit Tensilon erhoben haben, sind nur mit Vorbehalt zu werten, da bei diesem Stoff auch *in vitro* sich eine gewisse Spontanrestitution zeigt und weil bei den zur Lähmung notwendigen hohen Konzentrationen möglicherweise

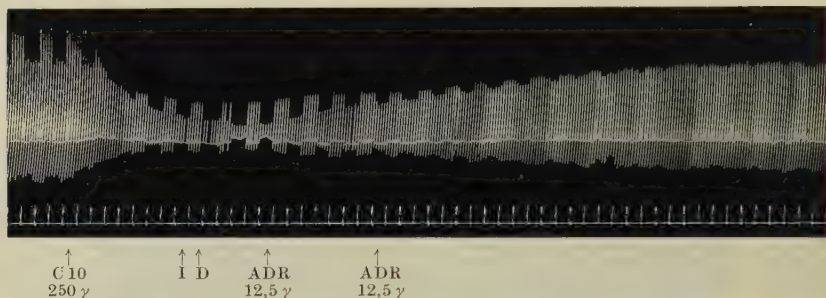


Abb. 3. C_{10} Decamethoniumbromid; ADR Adrenalin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 4 msec; Impulsstärke 25 mAmp (25 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

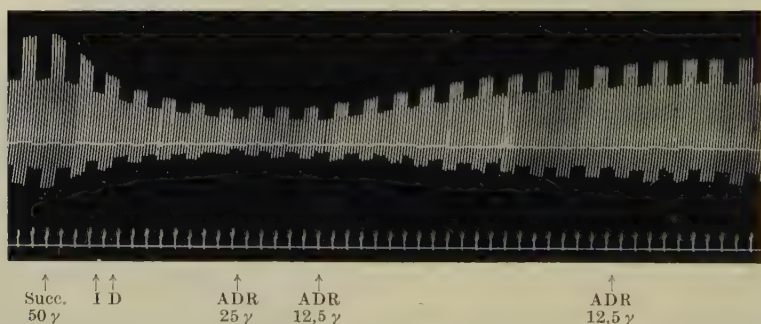


Abb. 4. Succ. Succinylcholin; ADR Adrenalin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 3 msec; Impulsstärke 29 mAmp (29 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

schon der Natriumsulfit- und Phenolzusatz unübersehbare Nebenwirkungen verursacht.) Die dabei benutzten Konzentrationen betrugen im Durchschnitt für Succinylcholin 200 $\gamma\%$, Nicotin 2 $\text{mg}\%$ und Tensilon 4 $\text{mg}\%$. Es wird lediglich ein Succinylcholinversuch wiedergegeben, weil sich der Verlauf nicht prinzipiell von dem bei Nicotin und Tensilon unterscheidet. Wie Abb. 4 zeigt, verhalten sich indirekte und direkte Zuckungen hier gleich, werden gleich stark gelähmt und restituiert. Das hat seinen Grund wohl darin, daß der Reiz, vor allem der direkte, nicht für jedes Präparat übermaximal war.

In calciumfreier Tyrodelösung fällt die Zuckungshöhe nach wenigen Minuten steil ab. Als Zeichen dafür, daß die Endplatte empfindlicher ist,

bleibt nur noch ein Rest der direkten Zuckung erhalten. Adrenalin wirkt bei derartig hochgradigem Calciummangel meistens nicht, und wenn, dann nur auf die direkte Zuckung, wie Abb. 5 wiedergibt. Erst mit allmählicher Erhöhung der Calciumchloridkonzentration auf 4 mg% kehrt auch die indirekte Zuckung zurück und steigt bald nach vorübergehender Kontraktur steil an. Die Lähmung, die sich in calciumfreiem Milieu ausbildet, wird schon durch minimale Calciumchloridkonzentrationen (1 bis 2 mg%) oft völlig aufgehoben. In Fällen, wo mit dieser Konzentration keine volle Restitution erreicht werden kann, läßt sich der Effekt durch Adrenalin leicht vervollständigen.

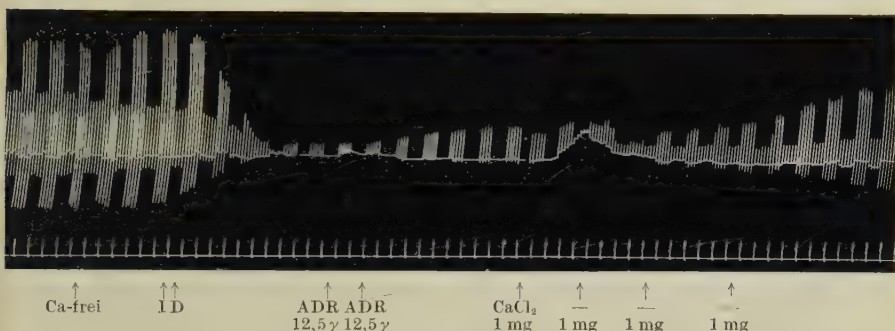


Abb. 5. *Ca*-frei *CaCl*₂-freie Tyrodelösung; *ADR* Adrenalin; *CaCl*₂ Calciumchlorid. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 2 msec; Impulsstärke 25 mAmp (25 V). *I* Indirekter Reiz; *D* direkter Reiz. Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec.

Die Abschwächung einer *Curare*-Lähmung mit Adrenalin gelang uns genau so wenig wie mit Chinidin. Bei Adrenalin haben wir sogar zweimal das Umgekehrte, eine Verstärkung, beobachtet. Die vorherige Curarisierung war nebenbei die einzige Bedingung, unter der Adrenalin in diesen Versuchen lähmende Eigenschaften zeigte.

Diskussion.

Angesichts des kräftig deblockierenden Effektes gegenüber Stoffen mit bekannter Wirkung auf die Endplatte kann dem Adrenalin eine erhebliche Wirksamkeit auf die *Endplatte* nicht abgesprochen werden. Dabei bleibt selbstverständlich unbestritten, daß es auch auf die Muskelfaser wirkt^{19, 4, 3}, wofür unser in Abb. 5 wiedergegebener Versuch ein weiteres Beispiel gibt. Ein Unterschied besteht allerdings, wie man diesem Versuch entnehmen kann. Die Wirkung auf die Endplatte ist gegenüber Calciumentzug empfindlicher als jene auf die Muskelfaser.

In diesem Zusammenhang erinnert man sich daran, daß Calcium für die Acetylcholinfreisetzung an der Endplatte von Bedeutung ist⁸. Adrenalin selbst besitzt Eigenschaften, die sich gleichsinnig auswirken können,

es hemmt die Cholinesterase^{2, 7} und steigert die Synthese von Acetylcholin²⁶. Aber wenn der Antagonismus gegen Lähmungen erklärt werden soll, die mit klassischen Cholinesterase-Hemmstoffen erzeugt wurden, dann können diese Eigenschaften schwerlich dafür in Anspruch genommen werden. Hierfür geben die beiden Stoffen gemeinsamen, repolarisierenden Fähigkeiten eine sehr viel wahrscheinlichere Erklärung.

Demnach scheint es besser, die deblockierende Adrenalinwirkung als Ausdruck repolarisierender Eigenschaften anzusehen; denn alle hier zum Block verwendeten Stoffe einschließlich Kalium depolarisieren die Endplatte, wenngleich Kalium nicht spezifisch wie andere Stoffe vorwiegend die Endplatte depolarisiert, sondern ganz allgemein auch die Muskelfaser.

Von LING¹⁷ wurde dieser depolarisationsvermindernde Adrenalineffekt am Frochmuskel direkt gemessen. Adrenalin verhindert ein Absinken des Ruhepotentials und gleichzeitig einen Verlust von Kalium und organischem Phosphat. Am Warmblütermuskel fanden BROWN, GOFFART u. DIAS und GOFFART u. PERRY¹¹ sowie STIKNEY²⁵ grundsätzlich das gleiche. Zwei weitere Befunde weisen in dieselbe Richtung: Der von FRANK, NOTHMANN u. GUTTMANN¹⁰ und TORDA u. WOLFF²⁷, daß durch Adrenalin und Cocain die Kaliumempfindlichkeit des Froschrektus abgeschwächt wird, und der von McDOWAL¹⁸, daß die Acetylcholinlähmung des denervierten Rattenzwerchfells durch Adrenalin, Ephedrin und andere Sympathicomimetica aufgehoben werden kann.

Die Annahme, Adrenalin wirke mehr mittelbar durch eine Änderung der Kaliumverteilung, wird unwahrscheinlich, wenn man weiß, daß eine Lähmung durch Erhöhung der Kaliumkonzentration auf das 5—6fache sich mit Adrenalin leicht reduzieren läßt. Kalium erscheint hier also lediglich als depolarisierender Stoff unter anderen, dem Adrenalin repolarisierend entgegenwirkt. Insofern überrascht es nicht, daß es nicht gelang, eine Curarelähmung abzuschwächen, sondern daß im Gegenteil unter Umständen sogar eine Verstärkung durch Adrenalin erfolgte. In vivo allerdings werden die Verhältnisse schwerer übersehbar, da nach höheren Adrenalindosen die Serum-Kaliumkonzentration ansteigt^{9, 17, 20, 24}. Auch in vitro gibt es Bedingungen, unter denen Adrenalin nach vorübergehender anodischer Wirkung mit Verminderung des Kaliumaustritts anschließend die Membran depolarisiert^{11a}. Auf diese Weise können Überschneidungen entstehen, auf denen wohl in einem Teil der Fälle die scheinbaren Widersprüche beruhen.

Schließlich sind uns 2 Befunde bekannt, wo Adrenalin auch in vivo sich so verhalten hat, wie man es nach diesen Ergebnissen am Rattenzwerchfell erwartet hätte. PATON u. ZALMIS^{22b} fanden bei der Katze am Tibialis, daß Adrenalin die Decamethoniumlähmung abschwächt und umgekehrt die Curarelähmung verstärkt. UNNA u. PELICAN²⁸ haben an Mäusen eine gleichsinnige Beobachtung gemacht. Im ersten Fall zeigt sich der Effekt von der Muskelart abhängig und im zweiten von der Tierart.

Es bleibt zum Schluß die Frage offen, ob Adrenalin unmittelbar als Stoff die Membran repolarisiert oder mittelbar über seine Eigenschaften als Stoffwechselkatalysator. Beide Möglichkeiten sind denkbar.

Zusammenfassung.

1. Adrenalin hebt die Kaliumlähmung auf.
2. Adrenalin zeigt deblockierende Eigenschaften gegenüber einem mit Physostigmin, Prostigmin, Decamethonium, Succinylcholin und Nicotin erzeugten Block.
3. In Ca-freier Tyrodelösung besitzt Adrenalin auf die Endplatte keine Wirkung mehr.

Literatur.

- ¹ Annals of the New York Academy of Sciences **54**, Art. 3, 297—530 (1951). — ² BENSON, W. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **68**, 598 (1948). — ³ BRAND, H.: Experientia (Basel) **8**, 273 (1952). — ⁴ BROWN, G. L., E. BÜLBRING and B. D. BURN: J. of Physiol. **107**, 115 (1948). — ⁵ BÜLBRING, E., and J. H. BURN: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **68**, 150 (1940). — J. of Physiol. **101**, 224 (1942). — Physiologic. Rev. **25**, 377 (1945). — BÜLBRING, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — ⁶ BÜLBRING, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — ⁷ BURN, J. H.: Physiologic. Rev. **25**, 377 (1945). — ⁸ CASTILLO DEL, J., and B. KATZ: J. of Physiol. **120**, 32P (1953). — CASTILLO DEL, J., and L. ENGBAER: J. of Physiol. **120**, 54P (1953). — ⁹ D'SILVA, J. L.: J. of Physiol. **90**, 302 (1937). — ¹⁰ FRANK, E., M. NOTHMANN u. E. GUTTMANN: Pflügers Arch. **199**, 567 (1923). — ^{11a} GOFFART, M., and W. L. M. PERRY: J. of Physiol. **112**, 95 (1951). — ^{11b} GOFFART, M., BROWN, G. L. and M. VIANNA DIAS: J. of Physiol. **111**, 184 (1950). — ¹² GOFFART, M., et G. L. BROWN: C. r. Soc. Biol. (Paris) **141**, 958 (1947). — ¹³ GRUBER, C. M.: Amer. J. Physiol. **33**, 335 (1914), zit. nach 4. — ¹⁴ GUGLIEMETTI, J.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **87**, 692 (1922). — ¹⁵ HALL, R. A., and M. W. PARKES: J. of Physiol. **122**, 274 (1953). — ¹⁶ HEBB, C. O., and R. H. NIMMO-SMITH: J. of Physiol. **105**, 1 (1946). — ¹⁷ LING, G. N.: Phosphor Metabolism **2**, 748 (1952). — ¹⁸ McDOWALL, R. J. S., and R. WATSON: J. of Physiol. **114**, 515 (1951). — ¹⁹ MICHOŁ, E.: Z. Biol. **90**, 313 (1930). — ²⁰ O'BRIEN, G. S., Q. R. MURPHY and W. J. MEEK: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 453 (1953). — ²¹ ORBELI, L. A.: Bull. Soc. Leshaft, Petrograd **6**, 194 (1923), zit. nach 4. — ^{22a} PATON, W. D., and E. J. ZAIMIS: Pharmacol. Rev. **4**, 219 (1952). — ^{23b} PATON, W. D., and E. J. ZAIMIS: Lancet **1950**, 568. — ²³ RUMMEL, W., u. TH. SCHMITZ: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. (im Druck) (1954). — ²⁴ SCHWARZ, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **177**, 628 (1935). — ²⁵ STICKNEY, J. CL.: Amer. J. Physiol. **132**, 9 (1940). — ²⁶ TAUGNER, R., u. A. FLECKENSTEIN: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **209**, 286 (1950). — ²⁷ TORDA, C., and H. G. WOLFF: J. Labor. a. Clin. Med. **32**, 1374 (1947). — ²⁸ UNNA, KL. R., and E. W. PELIKAN: Ann. New York Acad. Sci. **54**, 480 (1951). — ²⁹ ZAIMIS, E. J.: J. of Physiol. **122**, 238 (1953).

Doz. Dr. W. RUMMEL, Pharmacol. Inst. d. Med. Akademie Düsseldorf.

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein.

Über einige Tetrahydro-1,4-oxazine mit sympathicomimetischen Eigenschaften.

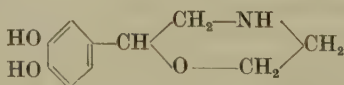
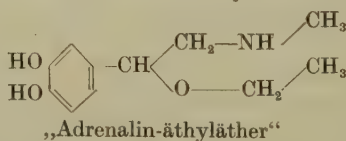
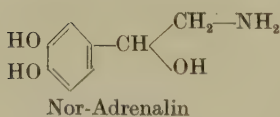
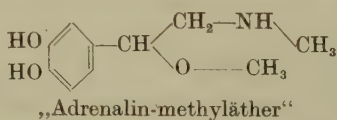
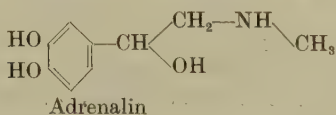
Von

O. THOMÄ und H. WICK.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. März 1954.)

Bei weiteren Arbeiten auf dem Gebiet der Sympathicomimetika haben wir uns etwas mehr von dem bisher gegebenen Modell entfernt, indem wir die Äthylamin-Seitenkette des sympathicomimetischen Grundskelets in einen Tetrahydro-1,4-oxazinring* einbauten. Dabei kamen wir zu dem überraschenden Ergebnis, daß bei diesen Varianten die pharmakologischen Grundeigenschaften der bisher bekannten vergleichbaren Körper noch weitgehend erhalten sind. Dies erscheint uns bemerkenswert, da der Tetrahydro-1,4-oxazinring bisher in der Natur nicht aufgefunden wurde. Die vergleichbar wenigen synthetischen Verbindungen, die dieses Ringsystem enthalten (GILMAN u. WANSER, 1951, GEISSMAN, BASSIN u. ZEILBERGER, 1951, MORRISON, LONG u. KÖNIGSTEIN, 1951), waren stets am Stickstoff substituiert (tertiäre Basen) und zeigten keine besonders interessanten pharmakologischen Eigenschaften. Von unseren neu synthetisierten Verbindungen, die in Anlehnung an die Sympathicomimetika als sekundäre Amine aufgebaut wurden, sollen in dieser Mitteilung zunächst die pharmakologischen Eigenschaften von



2-(3,4-Dioxyphenyl)tetrahydro-1,4-oxazin (A 40)

* auch oft Morpholinring genannt.

2 Verbindungen, nämlich 2-(3,4-Dioxyphenyl)tetrahydro-1,4-oxazin (A 40) und 2-Phenyl-3-methyl-tetrahydro-1,4-oxazin (A 66) beschrieben werden. Beide Körper sind salzsaure Salze und liegen zunächst als Racemate vor. Die Wirkung der optisch aktiven Komponenten soll später beschrieben werden.

An den Formeln ist zu erkennen, daß A 40 sich vom Adrenalin dadurch unterscheidet, daß es keine freie alkoholische Hydroxylgruppe mehr trägt. Es liegt viel-

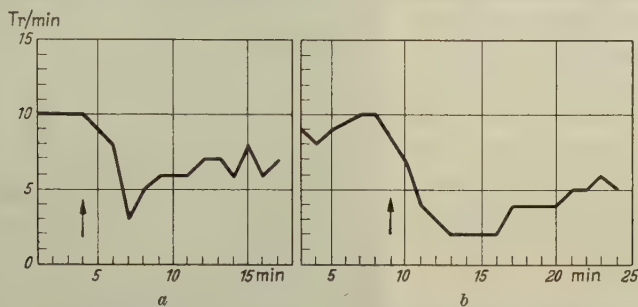


Abb. 1. Isoliertes Kaninchenohr nach KRAWKOW-PISSEMSKI. Ordinate: Tropfen pro Minute. Abszisse: Zeit in Minuten. a) beim Pfeil 0,1 μ g A 40, b) beim Pfeil 0,1 μ g A 40 + 0,1 mg Cocain.

mehr ein Äthyläther vor, die Äthylgruppe bildet jedoch eine Brücke zwischen dem Stickstoff und dem Sauerstoff der alkoholischen Hydroxylgruppe. Mit dem A 40 sind chemisch verwandt die von C. FUNCK (1923) beschriebenen Adrenalinmethyläther bzw. -Äthyläther.

Das Hydrochlorid und die Base des 2-(3,4-Dioxyphenyl)tetrahydro-1,4-oxazin bilden weiße Kristalle. F. des Hydrochlorids mit Kristallwasser 221° C, F. des Hydrochlorids ohne Kristallwasser 228° C. F. der Base 203° C.

1. *Herzwirkung.* Am isolierten Froschherzen nach STRAUB wirkt A 40 wie Adrenalin: bei 10^{-6} bis 10^{-4} Vergrößerung der Hubhöhe. Bei 10^{-2} tritt ein Herzstillstand auf, der leicht reversibel ist.

2. *Gefäßwirkung.* Am isolierten Kaninchenohr nach KRAWKOW-PISSEMSKI wirkt A 40 gefäßverengernd, und zwar ist es im Vergleich zu Adrenalin etwa 2—5 mal schwächer. Durch Cocain kann die Gefäßwirkung verstärkt werden (Abb. 1).

3. *Blutdruckwirkung.* Das Wirkungsverhältnis von A 40 (Racemat) zu l-Adrenalin ist bei den verschiedenen Tierarten etwas unterschiedlich und auch bei der gleichen Species nicht völlig konstant. Wir fanden A 40-Racemat rund 3—10 mal schwächer pressorisch wirksam als l-Adrenalin. Die Form der Blutdruckkurve weicht nicht von der des Adrenalins ab (Abb. 2);

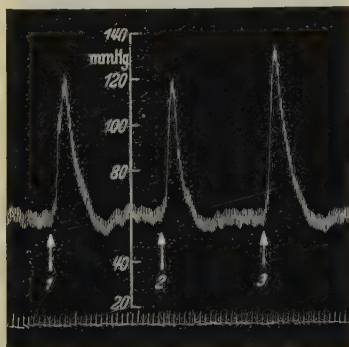
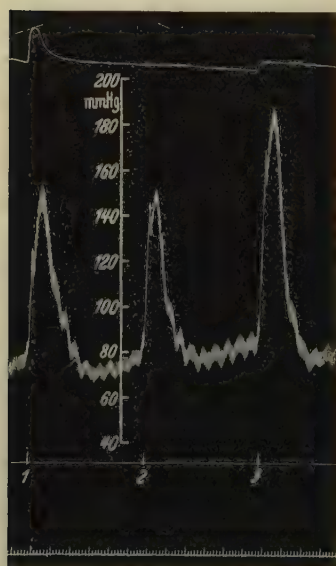


Abb. 2. Dekapitierte Katze, 2,6 kg. Zeit-schreibung 10 sec. 1 2 μ g/kg Adrenalin, 2 5 μ g/kg A 40 rac. 3 10 μ g/kg A 40 rac.

oft folgt auf die pressorische Phase eine depressorische Nachphase, die meistens stärker als die des Adrenalins ist. Durch Cocain wird die pressorische Wirkung des A 40 etwas verstärkt (Abb. 3), durch Sympathicolytika wie Ergotamin und 2-(N-p-Tolyl-N-m-oxy-phenyl-aminomethyl)-imidazolin wird jedoch die pressorische Wirkung nicht umgekehrt, sondern nur abgeschwächt. Die blutdrucksteigernde Wirkung einer A 40-Lösung wird auch durch 3—6 min langes Kochen unmittelbar vor der Injektion nicht erkennbar abgeschwächt.



a



b

Abb. 3. Katze, 2,9 kg, Chloralose-Urethan-Narkose. Künstliche Atmung, 2 mg/kg Atropin. Bivagotomie. Oben: re. Nickhaut, Mitte: Blutdruck A. carotis sin., Hg-Manometer, unten: Signal und Zeitschreibung 10 sec. 1 2,5 μ g/kg Adrenalin, 2 20 μ g/kg A 40, 3 40 μ g/kg A 40. Zwischen a und b: 5 mg/kg Cocain.

4. *Nickhautwirkung.* A 40 ist etwa 30—50 mal schwächer an der Nickhaut kontrahierend als Adrenalin. Durch Cocain kann diese Wirkung deutlich verstärkt werden (Abb. 3a und 3b).

5. *Blutzuckerwirkung.* Diese wurde an nicht narkotisierten Hunden nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN in Doppelbestimmungen untersucht. Verglichen wurde 0,1 mg/kg Adrenalin mit 1,0 mg/kg A 40. Beide Stoffe wurden intramuskulär injiziert. Die maximalen Änderungen des Blutzuckerspiegels sind in der Tab. 1 genannt:

Tabelle 1.

	vorher mg%	nach Adrenalin mg%	vorher mg%	nach A 40 mg%
1. Hund, 18,5 kg	100	204	112	316
2. Hund, 23,0 kg	67	152	78	263
3. Hund, 27,5 kg	96	192	105	300
4. Hund, 21,5 kg	114	200	100	300

Über den zeitlichen Ablauf und die Flächeninhalte der Kurven orientiert als Beispiel die Abb. 4. Auffallend war noch der Unterschied

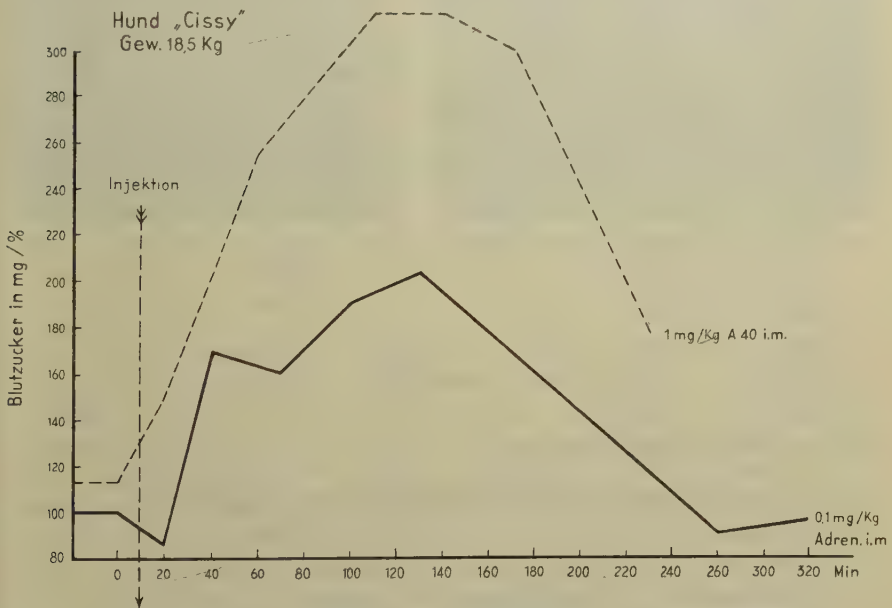


Abb. 4. Blutzuckerwirkung von 0,1 mg/kg Adrenalin i.m. und 1 mg/kg A 40 i.m. beim nicht narkotisierten Hund.

im psychischen Verhalten der Hunde: Nach Adrenalin eine lebhaft motorische Unruhe, nach A 40 unverändertes Verhalten.

6. *Darmwirkung.* Am spontan tätigen isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS ruft A 40 in einer Endkonzentration von 10^{-5} und 10^{-4} einen leichten Abfall des Tonus hervor, der auch ohne Auswaschen schnell zurückgeht und etwa der Wirkung von Adrenalin 10^{-6} entspricht.

7. *Bronchialwirkung.* Sie wurde mit der kombinierten Methode von KONZETT-RÖSSLER (1940) und KAHN (1907) untersucht. Ein sicheres Ergebnis war jedoch innerhalb des Dosenbereiches von 1—50 $\mu\text{g/kg}$ A 40 nicht zu erzielen.

8. *Lokalanaesthesie.* Nach der Methode von REGNIER (1923) wurde die Wirkung von A 40 bei lokaler Einwirkung auf die Kaninchen-Cornea untersucht. Bis zu Konzentrationen von 10% A 40 ließ sich keine lokalanaesthetische Wirkung nachweisen.

9. *Toxicität.* Die LD 50 bei subcutaner Injektion bei weißen Mäusen beträgt rund 65 mg/kg (6 Gruppen zu je 10 Tieren). Bei peroraler Verabreichung liegt die Toxicität bei weißen Mäusen zwischen 1,6 und 3,2 g/kg.

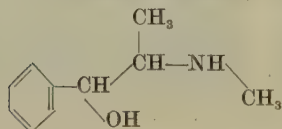
Die Toxicität des Procains, die nach OELKERS (1940) durch Zusatz von Adrenalin bei weißen Mäusen erhöht ist, wird durch A 40-Zusatz in ungefähr gleichstarker capillar- und pressorisch wirkender Dosierung nicht wesentlich verändert, wie die Tab. 2 zeigt.

Tabelle 2.

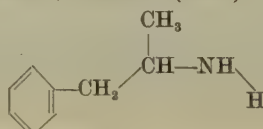
mg/kg Procain	Procain 4% allein (OELKERS) %	Procain 4% + 0,05 mg/cm ³ Adre- nalin 1 promillig (OELKERS) %	Procain 4% + 0,05 mg/cm ³ A 40 5 promillig %	Procain 4% + 0,05 mg/cm ³ Adrenalin 1 promillig %
0,3		80	100	—
0,4	100	70	100	100
0,5	100	45	90	90
0,6	95	18	80	40
0,7	85	0	60	60
0,8	65		80	0
0,9	25		30	0
1,0	25		20	
1,1			10	
1,2	10		—	

Prozentzahlen = überlebende Tiere.

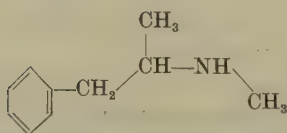
2-Phenyl-3-methyl-tetrahydro-1,4-oxazin (A 66).



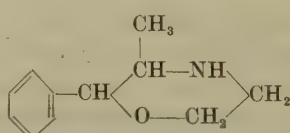
Ephedrin



Phenylisopropylamin



Phenylisopropyl-methylamin



2-Phenyl-3-methyl-tetrahydro-1,4-oxazin (A 66)

A 66 steht zum Ephedrin im selben Verhältnis wie A 40 zum Adrenalin. Chemisch ist es von dem sauerstofffreien Phenylisopropylamin bzw. Phenylisopropylmethylamin etwas weiter entfernt als die Adrenalinäther von FUNCK vom A 40.

Base und Hydrochlorid bilden weiße Kristalle. Base: Kp 12 = 138° C, A 66-Hydrochlorid F = 178° C.

1. *Zentrale Erregung.* Bei der Toxizitätsprüfung fiel die zentrale Erregung, gekennzeichnet durch starke motorische Unruhe der verwendeten Mäuse, auf. Deshalb wurde an Ratten die Erregung nach A 66 mit der nach Phenylisopropylamin vergleichend untersucht, desgleichen die Weckwirkung beider Stoffe an Ratten, die durch 100 mg/kg 5,5-diäthylbarbitursaures Natrium intraperitoneal in Schlaf versetzt worden waren.

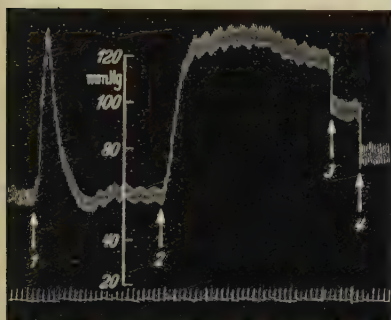


Abb. 5a. Dekapitierte Katze, 2,6 kg. Blutdruck Hg-Manometer. Zeitschreibung 10 sec.
1 2 µg/kg Adrenalin, 2 2 mg/kg A 66,
3 2 min Pause, 4 10 min Pause.

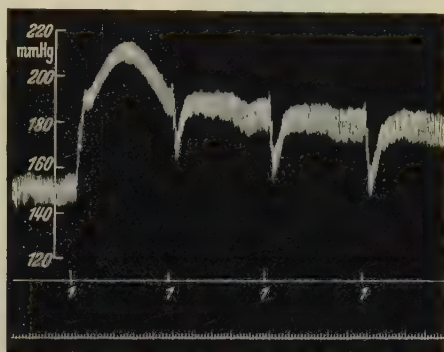


Abb. 5b. Katze, 3,6 kg. Chloralose-Urethan-Narkose, Bivagotomie. Blutdruck Hg-Manometer, Zeitschreibung 10 sec.
1 Jeweils 2 mg/kg A 66.

In beiden Versuchsreihen war A 66 etwa 7—10 mal schwächer als Phenylisopropylamin wirksam (beide Substanzen gleichfalls intraperitoneal verabfolgt). An nicht narkotisierten Hunden waren Dosen von 2,5 mg/kg Phenylisopropylamin subcutan mit Dosen von 15 mg/kg A 66 subcutan etwa wirkungsgleich und erzeugten eine etwa 3—4 Std anhaltende Erregung. Bei narkotisierten Katzen (Chloralose-Urethan) und Hunden (Morphin-Chloralose) konnten bis zu Dosen von 10 mg/kg A 66 keine Weckwirkung oder Abnahme der Narkosetiefe mit Sicherheit festgestellt werden.

2. *Herzwirkung.* Am isolierten STRAUBSchen Froschherzen zeigte A 66 in niederen Konzentrationen (10^{-6} bis 10^{-4}) keine besonderen Wirkungen. Erst eine Konzentration von 10^{-3} bewirkte eine Vergrößerung der Hubhöhe.

3. *Gefäßwirkung.* Am isoliert durchströmten Kaninchenohr nach KRAWKOW-PISSEMSKI und am Froschgefäßpräparat nach TRENDLENBURG ließ sich eine Gefäßwirkung von A 66 nicht mit Sicherheit zeigen.

4. *Blutdruckwirkung.* a) *Intravenöse Injektion.* Bei intravenöser Injektion ist A 66 bei Katzen und Hunden etwa 1000—1500 mal schwächer pressorisch wirksam als Adrenalin (Abb. 5a); die Wirkung hält jedoch

wesentlich länger an. Die Verbindung zeigt deutlich das Phänomen der Tachyphylaxie (Abb. 5b), die die Untersuchungsmöglichkeit der blutdrucksteigernden Wirkung am gleichen Versuchstier sehr stark einschränkt. Nach einer Injektion von 2 mg/kg A 66 ist eine zweite Injektion der gleichen Dosis 1½—2 Std später in ihrer blutdrucksteigernden Wirkung stark abgeschwächt und beträgt etwa nur noch 1/3 der ursprünglich steigernden Wirkung. Eine Mit-Tachyphylaxie für Phenylisopropylamin besteht nicht (Abb. 5c); nur wenn sehr hohe Dosen von A 66 (10 mg/kg

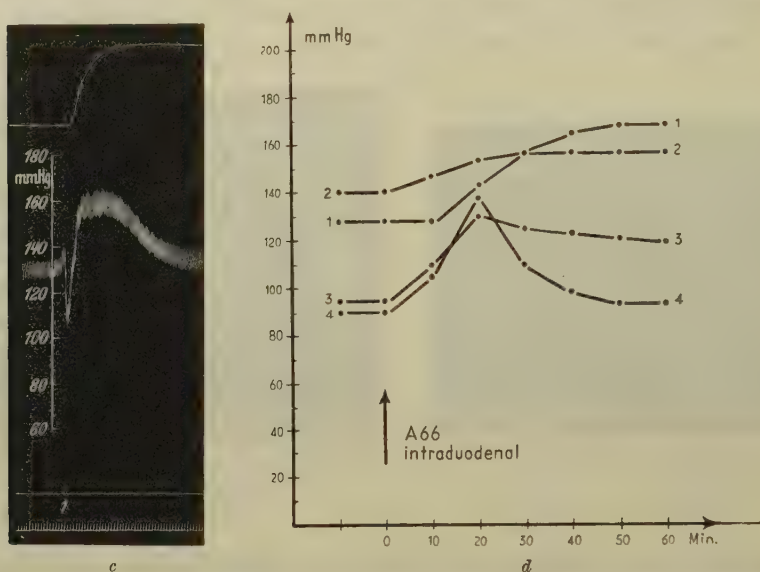


Abb. 5c. Katze, 5,0 kg, Chloralose-Urethan-Narkose. Bivagotomie, 5 mg/kg Atropin. Oben: Nickhaut, unten: Blutdruck Hg-Manometer. Zeitschreibung 10 sec. Nach vorherigen Gaben von 4 mal 2 mg/kg A 66. 1 1 mg/kg Phenylisopropylamin.

Abb. 5d. Blutdruckwirkung von A 66 bei intraduodenaler Gabe. 1 Hund, 12,0 kg. Vagi intakt, kein Atropin. 10 mg/kg A 66. 2 Hund, 17,0 kg. Vagi intakt, kein Atropin. 5 mg/kg A 66. 3 Katze, 2,7 kg. Vagi intakt, kein Atropin. 5 mg/kg A 66. 4 Katze, 2,9 kg. Bivagotomie, 4 mg/kg Atropin. 10 mg/kg A 66.

und mehr) vorher gegeben worden sind, ist die pressorische Wirkung von Phenylisopropylamin verändert.

b) Enterale Verabfolgung. Bei intraduodenaler Gabe von A 66 sind die Blutdrucksteigerungen wesentlich geringer als bei parenteraler Applikation. Die Blutdruckkurven von 4 Versuchen sind in der Abb. 5d dargestellt; aus ihnen geht hervor, daß die Blutdrucksteigerung etwa 10 bis 20 min nach intraduodenaler Verabfolgung beginnt und der Blutdruck sich meist auf ein nur unwesentlich erhöhtes Niveau einstellt, während die Nickhautkontraktion etwa 20 min nach der intraduodenalen Gabe beginnt und erst nach rund 60 min ihren endgültigen Kontraktionszustand erreicht. Die erfolgte Resorption von A 66, auch in Fällen von

sehr geringer Blutdrucksteigerung, läßt sich gut an der veränderten Reaktionsweise der Nickhaut nachweisen, die auf Adrenalin, Nor-Adrenalin, Epinin und Tyramin viel stärker reagiert als zu Versuchsbeginn.

5. *Wirkung auf die Nickhaut.* Eine mit Adrenalin äquipressorische Dosis A 66 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$ Adrenalin — 2 mg/kg A 66) ruft eine rund 5mal stärkere Nickhautkontraktion hervor, die sehr langsam abläuft und ihr Maximum nach etwa 10 min erreicht. Weitere Injektionen der gleichen Dosis A 66 steigern die Kontraktion kaum noch. Wenn die Nickhaut in diesem Zustand auf Injektionen von A 66 keine Reaktion mehr zeigt, dann kontrahiert jedoch Phenylisopropylamin noch weiter (Abb. 5c).

Bei präganglionärer elektrischer Reizung des Hals sympathicus erfolgt die Kontraktion der Nickhaut etwa gleich schnell nach 4 mg/kg A 66 wie bei der vorhergehenden Kontrolle, die Kontraktionshöhe ist aber vermindert (Abb. 6). Charakteristisch ist die langsame Erschlaffung nach Beendigung des Reizes.

6. *Veränderungen der Wirkung anderer Sympathomimetika durch A 66.* a) *Nor-Adrenalin.* Die Blutdrucksteigerung durch Nor-Adrenalin bei Katzen und Hunden wird nach A 66 ($2\text{--}6\text{ mg/kg}$) deutlich verstärkt. Die Nickhaut wird nach A 66 für Nor-Adrenalin stark sensibilisiert und reagiert je nach der Dosierung des Nor-Adrenalins 5—15mal stärker als vor der Gabe von A 66.

b) *Adrenalin.* Die pressorische Wirkung von Adrenalin wird durch A 66 ($2\text{ bis }6\text{ mg/kg}$) nicht einheitlich beeinflusst. Es tritt etwa ebenso oft eine Verstärkung der Adrenalinwirkung wie eine Abschwächung mit ausgeprägter depressorischer Nachphase auf. Die Nickhautwirkung des Adrenalins wird nach A 66 gleichfalls und zwar um etwa das 3—10fache verstärkt.

c) *Epinin.* Die Blutdruckwirkung des Epinin wird nach A 66 nicht wesentlich verändert, gelegentlich tritt eine geringe Verstärkung, oft auch eine Abschwächung ein. Die Nickhaut kontrahiert sich auf Epinin nach A 66 ($2\text{--}6\text{ mg/kg}$) rund 5 bis 20mal stärker als vor der Gabe von A 66.

d) *Tyramin.* Die Blutdruckwirkung des Tyramins ist nach A 66 stark abgeschwächt, während A 66 die Wirkung von Tyramin an der Nickhaut deutlich potenziert (Abb. 7).

e) *A 40.* Blutdruck- und Nickhautwirkung von A 40 sind nach A 66 nicht nennenswert verändert.

7. *Darmwirkung.* Am isolierten, spontan tätigen Kaninchendünndarm nach MAGNUS ruft A 66 erst in einer Endkonzentration von 10^{-4}



Abb. 6. Katze, 2,9 kg, Chloralose-Urethan-Narkose. Vagi intakt, kein Atropin. Zeitschreibung 10 sec. Präganglionäre Reizung des re. Vago-sympathicus mit 33 Impulsen/sec. Impulsform rechteckig, Impulsdauer 1 msec. Reizperiode 10 sec. Myogramm der re. Nickhaut. a) vor A 66, b) nach 2 mal 2 mg/kg A 66 i.v.

einen leichten Tonusabfall, bei $2 \text{ mal } 10^{-4}$ einen etwas stärkeren Tonusabfall hervor, der nach dem Auswaschen schnell zurückgeht und der etwa die Wirkung von Adrenalin $2 \text{ mal } 10^{-5}$ hat.

8. *Bronchialwirkung.* Die Substanz wurde nach der Methode KONZETT-RÖSSLER (1940) beim Pilocarpin-Bronchospasmus des Hundes untersucht.

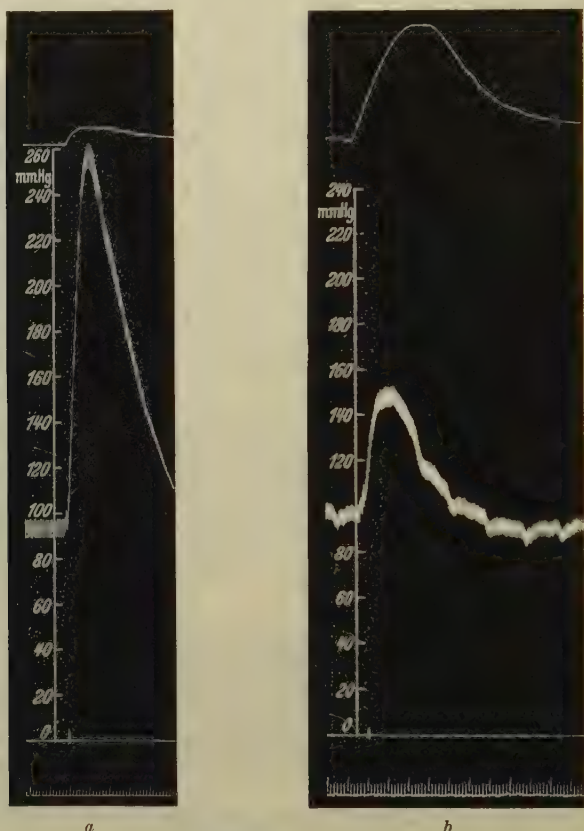


Abb. 7. Katze, 3 kg, Chloralose-Urethan-Narkose. Bivagotomie, 4 mg/kg Atropin. Zeitschreibung 10 sec. Oben: Myogramm der re. Nückhaut, unten: Blutdruck li. A. carotis, Hg-Manometer.
1 500 $\mu\text{g/kg}$ Tyramin. a) Vor A 66, b) 60 min nach 10 mg/kg A 66 intraduodenal.

Die bronchialerweiternde Wirkung von A 66 ist jedoch sehr gering. Erst 20 mg/kg A 66 zeigten einen geringen Effekt.

9. *Lokalanaesthesie.* Nach der Methode von REGNIER (1923) wurde an der Kaninchen-Cornea die lokalanaesthetische Wirkung von A 66 untersucht. Bis zu Konzentrationen von 10% ließ sich jedoch eine lokalanaesthetische Wirkung nicht nachweisen.

10. Blutzuckerwirkung. Hier wurden gleichfalls Untersuchungen an nicht narkotisierten Hunden nach HAGEDORN-JENSEN (Doppelbestimmungen) vorgenommen. Dosen von 1, 5 und 10 mg/kg A 66 intramuskulär bewirkten keine Änderung des Blutzuckerspiegels. Auch die Blutzuckerbelastungskurve durch 2 g/kg Glucose per os zeigte ohne Gabe von A 66 und bei 5 mg A 66 intramuskulär keine wesentlichen Unterschiede.

11. Toxizität. Die LD 50 wurde unter gleichen äußeren Bedingungen an weißen Mäusen bestimmt und nach KÄRBER (1931) berechnet. Sie betrug abgerundet für

	intraperitoneal mg/kg	subcutan mg/kg	peroral mg/kg
A 66.	200	195	475
Phenylisopropylamin . . .	50	75	95

Das Vergiftungsbild ist bei beiden Stoffen qualitativ gleich: lebhaftes Motorik, Unruhe, pausenloses Umherlaufen, gesträubte Haare, Exophthalmus, Krämpfe.

Besprechung der Ergebnisse.

Zu A 40. Es ist zunächst sehr überraschend, daß eine Verbindung wie A 40, die an Stelle der freien Seitenkette einen Tetrahydro-1,4-oxazinring trägt, sich nur so wenig vom Adrenalin bzw. Nor-Adrenalin unterscheidet. Die entsprechende Verbindung, bei der die Seitenkette noch nicht zu einem Ring geschlossen ist („Adrenalin-Methyläther“), zeigt eine wesentlich geringere pressorische Wirksamkeit, die etwa nur 1/50 von der des l-Adrenalins beträgt. Der „Adrenalin-äthyläther“ ist sogar noch etwas schwächer pressorisch wirksam und besitzt nur 1/60 bis 1/80 der blutdrucksteigernden Wirkung des l-Adrenalins. Trotz des Tetrahydro-1,4-oxazinringes an Stelle einer freien Äthylamin-Seitenkette sind aber die wesentlichen Grundeigenschaften des Adrenalins erhalten, wie aus der Verstärkung der Blutdruckwirkung durch Cocain, der Verstärkung der Nickhautwirkung durch Cocain und Denervierung (FLECKENSTEIN u. BASS, 1953) und aus der blutzuckererhöhenden Wirkung hervorgeht. Der einzige Unterschied zu Adrenalin besteht qualitativ darin, daß sich die Blutdruckwirkung durch Sympathicolytika nur abschwächen, aber nicht umkehren läßt. Diese fehlende Umkehrwirkung darf jedoch heute nicht mehr in der Richtung bewertet werden, daß Substanzen, die dieses Phänomen nicht hervorbringen, keine echten Sympathicomimetika seien, da die Blutdruckwirkung des Nor-Adrenalins durch Sympathicolytika auch nur abgeschwächt, aber nicht umgekehrt werden kann.

Darüber hinaus ist noch folgendes bemerkenswert: Der Tetrahydro-1,4-oxazinring kann durch die Aminooxydase nicht angegriffen werden

(noch zu veröffentlichende Versuche). Desgleichen ist ein Abbau der Verbindung zu Adrenochrom chemisch undenkbar. Auch in pharmazeutischer Hinsicht ist A 40 stabiler als Adrenalin, wie aus den Versuchen mit kurzzeitigem Aufkochen hervorgeht; in nicht saurem Milieu tritt jedoch bei Luftzufuhr gleichfalls langsam eine rötliche Verfärbung wie bei Adrenalin ein. Auffallend ist, daß die pressorische Wirkung des A 40 keineswegs länger anhält als die Wirkung einer äquipressorischen Adrenalin-Dosis, so daß aus dem Vergleich der beiden gleich schnell abfallenden Blutdruckkurven der Schluß gezogen werden muß, daß im akuten Versuch die Aminoxydase bezüglich der Wirkungsdauer keine nennenswerte Rolle spielen kann und daß die Inaktivierung nicht durch die Aminoxydase, sondern auf andere Weise erfolgen muß.

Variationen der Verbindung vom Typ des A 40 zeigen, daß die Hydroxylgruppe am Benzolkern die gleiche ausschlaggebende Rolle spielt wie sie bisher für das Adrenalin-Grundskelet bekannt ist. So besitzt als Beispiel die Verbindung mit nur einer phenolischen Hydroxylgruppe in Parastellung nur etwa 1/60 der pressorischen Wirkung des l-Adrenalins, die entsprechende Verbindung mit einer Hydroxylgruppe in Metastellung ist rund 40mal schwächer als l-Adrenalin. Die alte Regel, die schon von BARGER u. DALE (1910) aufgestellt worden ist, gilt also auch bei diesem Verbindungstyp bezüglich der phenolischen Hydroxylgruppen.

Eine etwas andere Rolle, als bisher seit BARGER u. DALE angenommen worden ist, spielt nun sicher die Hydroxylgruppe der Seitenkette. BARGER u. DALE stellten fest, daß das pressorische Optimum von Verbindungen erreicht wird, die zwei phenolische Hydroxylgruppen in 3,4-Stellung tragen und daß Verbindungen dieses Typs in ihrer pressorischen Wirkung noch durch eine Hydroxylgruppe der Seitenkette verstärkt werden. Sie untersuchten Adrenalin und Epinin und fanden, daß das Epinin rund 5mal schwächer pressorisch wirkt als racemisches Adrenalin. Nun sind die Verhältnisse dadurch kompliziert, daß durch die alkoholische Hydroxylgruppe 2 optisch aktive Isomere möglich sind und daß eine Zunahme an blutdrucksteigernder Wirksamkeit nur für die Linksform eintritt, während die Rechtsform schwächer als die Vergleichssubstanz Epinin wirkt:

	HO ← l-Adrenalin pressorische Aktivität: Zunahme: 10 X	Epinin optisch inaktiv	→ OH d-Adrenalin pressorische Aktivität: Abnahme: 3 X	rac. Adrenalin pressorische Aktivität: Zunahme: 5 X
relative Wirkungs- stärke	1	0,1	0,03	0,5

Daher gibt der Vergleich von Epinin mit racemischem Adrenalin die tatsächlich eingetretenen Veränderungen nicht richtig wieder, weil das

Racemat stets nur mehr als die Hälfte der Aktivität zeigt, die dem stärker aktiven Anteil des Gemisches allein zukommt, sofern durch eine Komponente des Gemisches nicht die andere in ihrer Wirkung gehemmt wird. Unsere vorliegende Verbindung A 40, deren pressorische Wirkung zunächst nur für das Racemat beschrieben ist, besitzt nun keine freie Hydroxylgruppe der Seitenkette mehr, übertrifft das Epinin an pressorischer Wirkung und kommt der Blutdruckwirkung des racemischen Adrenalins sehr nahe.

Demgegenüber ist festzustellen, daß die Hemmwirkungen des A 40 verhältnismäßig geringer sind als die fördernden Wirkungen des A 40 am Herzgefäß-System. So ist besonders die Hemmwirkung auf den Bronchialmuskel wesentlich schwächer als die des Adrenalins, und auch die Hemmwirkung des A 40 auf den isolierten Darm ist etwa $1\frac{1}{2}$ Zehnerpotenzen geringer als die des Adrenalins.

Auch die Toxizität des A 40 ist rund eine Zehnerpotenz geringer als die des Adrenalins, wobei noch als Nebenfund zu verzeichnen ist, daß die zentrale Erregung, die durch Adrenalin bei Hunden hervorgerufen wird, bei A 40 nicht mehr vorhanden ist; trotz weitgehender Ähnlichkeiten in der Wirkungsweise von A 40 und Adrenalin lassen sich also doch einige kleinere, aber charakteristische Unterschiede in der Wirkung nachweisen.

Zu A 66. Vergleicht man die Stärke der zentralen Erregung des A 66 mit der des Ephedrins und des Phenylisopropylamins, so läßt sich zeigen, daß die Wirkung auf das Zentralnervensystem von A 66 der Stärke nach eine Zwischenstellung einnimmt. Aus den Versuchen von FLECKENSTEIN (1953) geht hervor, daß A 66 jedoch in die Gruppe der sogenannten Neuro-Sympathicomimetika einzuordnen ist, da die Nickhaut nach Denervierung und Cocain auf A 66 nicht mehr mit einer Kontraktion reagiert, während Ephedrin durch Cocainisierung und Denervierung in seiner Wirkungsweise nicht verändert wird.

Mit beiden Substanzen (Ephedrin und Isopropylamin) hat A 66 gemeinsam, daß es am Blutdruck sehr stark das Phänomen der Tachyphylaxie zeigt. Im Gegensatz zur Wirkung des Phenylisopropylamins, das die Blutdruckwirkung von Nor-Adrenalin herabsetzt (HUIDOBRO, CROXATTO, ALLENDE u. DEL RIO, 1951), ist jedoch nach A 66 die pressorische Wirkung von Nor-Adrenalin verstärkt. Auch tritt nach mehrfachen Gaben von A 66 keine Mit-Tachyphylaxie am Blutdruck für Isopropylamin auf. Desgleichen reagiert die Nickhaut auf Isopropylamin noch mit einer deutlichen Kontraktion, auch wenn vorher durch mehrere aufeinanderfolgende Gaben von A 66 keine Nickhaut-Kontraktion mehr auszulösen ist. Aus diesen Versuchen muß geschlossen werden, daß A 66 doch eine andere Wirkungsweise besitzt bzw. auf einen anderen Receptor am Blutgefäß-System und an der Nickhaut einwirkt als Phenylisopropylamin.

Es hat sich nun ergeben, daß A 66 ebenso wenig wie A 40 durch die Aminooxydase angegriffen werden kann (noch zu veröffentlichende Versuche) und daß darüber hinaus beide Substanzen eine deutliche Hemmwirkung auf dieses Ferment ausüben. So möchten wir zunächst annehmen, daß die einheitlich verstärkte Wirkung von Adrenalin, Nor-Adrenalin, Epinin und Tyramin, die diese Sympathicomimetika nach der Verabfolgung von A 66 auf die Nickhaut ausüben, wohl dadurch zustandekommt, daß der fermentative Abbau dieser Sympathicomimetika durch die Aminooxydase gehemmt wird (BACQ, 1949, BLASCHKO, 1952). Der Unterschied gegenüber der Verstärkung dieser Sympathicomimetika an der Nickhaut durch Cocain und Denervierung geht vor allem daraus hervor, daß auch das Tyramin nach A 66 in seiner Nickhautwirkung enorm gesteigert ist, während nach Cocain und Denervierung die Tyraminwirkung abgeschwächt bzw. aufgehoben wird (BURN u. TAINTER, 1931). Da das Tyramin ein ausgezeichnetes Substrat für die Aminooxydase ist, besitzt dieser Erklärungsversuch für die verstärkte Nickhautwirkung des Tyramins nach A 66 zunächst einige Wahrscheinlichkeit.

Es ist möglich, daß die relativ geringe pressorische Wirksamkeit des A 66 bei enteraler Verabfolgung mit der tachyphylaxieerzeugenden Wirkung dieser Substanz am Blutdruck zusammenhängt. Wir halten es durchaus für möglich, daß die anfänglich resorbierten geringen A 66-Mengen die Wirkung der später resorbierten Mengen von A 66 partiell blockieren, so daß es zu einer Art Selbsthemmung der pressorischen Wirkung bei dieser langsamen Wirkstoffaufnahme kommt. Nur relativ hohe Dosen von 10 mg/kg A 66, die weit außerhalb der therapeutischen Dosierung am Menschen liegen, führen zu einer stärkeren Blutdrucksteigerung, die aber auch nicht entfernt mit der viel stärkeren pressorischen Wirkung von A 66 bei intravenöser Injektion verglichen werden kann.

Entsprechend der geringeren zentralerregenden Wirkung des A 66 im Vergleich zum Phenylisopropylamin ist auch die Toxizität geringer als die des Phenylisopropylamins, wenngleich es auch wegen der bekannten Schwierigkeiten (CHANCE, 1946, zit. nach BURN, 1948) nicht möglich ist, exakte Zahlen für die Toxizität der beiden Substanzen anzugeben.

Über die pharmakologische Wirkung von chemischen Variationen der 3-Stellung des Tetrahydro-1,4-oxazinringes von 2-Phenyltetrahydro-1,4-oxazinen sollen folgende Beispiele angeführt werden:

1. *2-Phenyl-tetrahydro-1,4-oxazin (A 56).*

Diese Verbindung besitzt am Tetrahydro-1,4-oxazinring keine Methylgruppe wie A 66. Ihre Toxizität beträgt bei subcutaner Injektion bei weißen Mäusen 350 mg/kg, bei peroraler Verabfolgung bei weißen Mäusen liegt die LD 50 bei 730 mg/kg. Auch diese Verbindung wirkt bei Ratten

und Mäusen stark zentralerregend, ist bei Hunden jedoch wirkungslos. Orientierende Versuche am Menschen haben ergeben, daß dieser Körper auch hier keine zentrale Erregung, sondern eher eine Sedation hervorruft. Auch diese Substanz zeigt am Blutdruck deutliche Tachyphylaxie. Die pressorische Wirkung ist etwa 500—1000mal schwächer als die des Adrenalins. Nach Versuchen von FLECKENSTEIN (1954) wird die Wirkung von A 56 auf die Nickhaut der Katze durch Cocain oder Denervierung weder verstärkt noch abgeschwächt und verhält sich demnach wie Ephedrin.

2. 2-Phenyl-3-äthyl-tetrahydro-1,4-oxazin.

Diese Verbindung, die an Stelle der Methylgruppe der Verbindung A 66 eine Äthylgruppe trägt, verhält sich qualitativ gleich wie A 66. Jedoch ist die zentrale Erregung deutlich geringer als die des A 66.

Seit der Arbeit von BARGER u. DALE (1911) über die Abhängigkeit von chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung sind wohl auf wenigen Gebieten so viele und intensive Kenntnisse zu diesem Thema zusammengetragen worden wie bei den Sympathicomimetika, so daß sie immer als ein Musterbeispiel für eine Gruppe gegolten haben, in der sich die Auswirkungen chemischer Veränderungen am leichtesten voraussehen lassen. Unsere Befunde über die neue Körperklasse der Sympathicomimetika, die an Stelle der freien Seitenkette des Adrenalin-Grundskelets einen Tetrahydro-1,4-oxazinring tragen, sind überraschend, da zunächst bei der Betrachtung der Strukturformel sich eine so nahe pharmakologische Verwandtschaft mit den Sympathicomimetika nicht erwarten läßt. Trotz weitgehender Ähnlichkeit mit den chemisch vergleichbaren Grundsubstanzen treten einige Unterschiede auf, wie wir es für die Beispiele A 40 und A 66 aufzeigen konnten.

Zusammenfassung.

Aus einer neuen Körperklasse von sympathicomimetischen Aminen, die an Stelle der freien Äthylaminseitenkette des sympathicomimetischen Grundskelets einen Tetrahydro-1,4-oxazinring tragen, werden 2 Verbindungen näher beschrieben.

1. Die erste Verbindung, 2-(3,4-Dioxyphenyl)-tetrahydro-1,4-oxazin, die zunächst als Racemat vorliegt, ist etwa 3—10mal schwächer pressorisch als Adrenalin. Ihre Blutdruckwirkung wird durch Cocain verstärkt, die Nickhautwirkung durch Cocain und Denervierung potenziert. Die Blutdruckwirkung wird durch Sympathicolitika abgeschwächt, nicht aufgehoben. Sie erhöht deutlich den Blutzuckerspiegel. Trotz des Ringschlusses der Äthylaminseitenkette zu einem tetrahydro-1,4-oxazinring sind die pharmakologischen Wirkungen dieses Körpers weitgehend mit denen des Adrenalins bzw. Noradrenalins gleich.

2. Die zweite Verbindung, 2-Phenyl-3-methyl-tetrahydro-1,4-oxazin, zeigt zentralerregende Wirkung, die 7—10mal schwächer als die des Phenylisopropylamins ist. Sie ist 1000—1500mal schwächer pressorisch wirksam als Adrenalin, erzeugt Tachyphylaxie und wirkt nach Cocain und Denervierung ebenso wie Phenylisopropylamin und Tyramin nicht mehr an der Nickhaut kontrahierend. Im Gegensatz zu Phenylisopropylamin steigert diese Verbindung die Blutdruckwirkung des Nor-Adrenalins und erzeugt keine Mit-Tachyphylaxie für Isopropylamin.

Die Verbindungen dieser Körperklasse können durch die Amino-oxydase nicht abgebaut werden, hemmen vielmehr die Aktivität dieses Ferments.

Die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung werden kurz diskutiert.

Literatur.

- BACQ, Z. M.: The metabolism of adrenaline. *Pharmacol. Rev.* **1**, 1 (1949). — BARGER, G., and H. H. DALE: Chemical structure and sympathomimetic action of amines. *J. of Physiol.* **41**, 19 (1910). — BLASCHKO, H.: Amine oxidase and amine metabolism. *Pharmacol. Rev.* **4**, 415 (1952). — BURN, J. H.: The Background of Therapeutics. London: Oxford University Press 1948. — BURN, J. H., and M. L. TANTER: An analysis of the effect of cocaine on the actions of adrenaline and tyramine. *J. of Physiol.* **71**, 169 (1931). — FLECKENSTEIN, A., u. H. BASS: Zum Mechanismus der Wirkungsverstärkung und Wirkungsabschwächung sympathomimetischer Amine durch Cocain und andere Pharmaka. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **220**, 143 (1953a). — Über Neuro-Sympathomimetica. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **1953**, 17 (1953b). — Pers. Mitt. (1954). — FUNCK, C., and L. FREEDMAN: Some derivatives of synthetic adrenaline. *J. Amer. Chem. Soc.* **45**, 1792 (1923). — GEISSMAN, T. A., M. BASSIN and E. J. ZEILBERGER: 4-methyl-2,2-diarylmorpholines. *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 5874 (1951). — GILMAN, H., and C. C. WANSEER: Some 2-substituted-4-methylmorpholines. *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 4030 (1951). — HUIDOBRO, F., R. CROXATTO, J. ALLENDE and J. DEL RIO: Fundamental basis of the specificity of pressor and depressor amines in their vascular effects. I.—Blockade of the hypertensive action of vasopressor amines by the effect of the same substances. *Acta physiol. lat.-amer.* **1**, 91 (1951). — KAHN, R. H.: Zur Physiologie der Trachea. *Arch. f. Physiol.* 1907, 398. — KÄRBER, G.: Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **162**, 480 (1931). — KONZETT, H., u. R. RÖSSLER: Versuchsanordnung zu Untersuchungen an der Bronchialmuskulatur. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **195**, 71 (1940). — MORRISON, L. A., R. F. LONG and M. KÖNIGSTEIN: Reduction of amides with lithium aluminium hydride. *J. Chem. Soc. (Lond.)* 1951, 952. — OELKERS, H.-A.: Zur Frage der Entgiftung der Lokalanästhetika insbesondere durch Adrenalin. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **196**, 493 (1940). — RÉGNIER, M. J.: Essai de mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la corneé par les anesthésiques locaux. *C. r. Acad. Sci. Paris* **177**, 558 (1923).

Dr. med. H. WICK, Pharmakologisches Laboratorium der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg/Bg.
(Direktor: Prof. Dr. S. JANSSEN).

Die Wachstumsfähigkeit von Ratten nach calorischer Unterernährung und bei chronischen Vergiftungen.

Von

ALFRED ENDERS.

(Eingegangen am 21. April 1954.)

Die Wirkung einer qualitativ einwandfreien, aber calorisch unzureichenden Kost wurde an erwachsenen Ratten von DA COSTA, an jungen, noch wachsenden Tieren von VERZÁR untersucht.

Nach DA COSTA nehmen bei entsprechender Reduktion der täglichen Nahrungszufuhr Ratten in einer Frist bis zu 85 Tagen 20% an Gewicht ab; sie gleichen diesen Gewichtsverlust in einer anschließenden Mastperiode in einem Bruchteil dieser Zeit wieder aus. VERZÁR gelang es, junge, etwa vier Wochen alte Ratten im Gewicht von durchschnittlich 50 g bis zu 5 Monaten auf einem Gewicht von 50 g zu erhalten. Die Tiere wurden täglich gewogen und ihnen jeweils nur soviel Nahrung verabreicht, daß ihr Gewicht gleich blieb. Obwohl nach dieser Zeit das Wachstum von normalen Ratten bereits abgeschlossen ist, erreichten nach VERZÁR die so vorbehandelten Tiere bei nachfolgender Ernährung ad libitum nicht nur das Gewicht normaler Ratten; die Männchen wurden 450 g schwer, die Weibchen 250 g. VERZÁR deutete dies als Riesenwachstum. VERZÁR stellte bei seinen Versuchen ferner fest, daß die Tiere nach dem 6. Monat der Unterernährung sehr hinfällig wurden und daß eine längere Erhaltung des Lebens unter diesen Verhältnissen unmöglich war.

Diese Befunde schienen mir deshalb einer Nachprüfung wert, weil ich bei einigen meiner Versuche die von VERZÁR als Riesenwachstum gedeuteten Gewichte auch unter normalen Verhältnissen beobachtete. Damit übereinstimmend hat in jüngster Zeit INGLE gezeigt, daß Ratten bei entsprechender Mast bis zu 1000 g schwer werden können.

Methodik.

Bei unseren Versuchen (1949—1953) verwendeten wir Albinoratten und braun-weiß gefleckte Tiere im Alter von 4—5 Wochen. Sie hatten ein Gewicht von 45—50 g. Die Tiere waren nicht erbgleich, sie entstammten einer Mischzucht des Instituts. Sie wurden in Drahtkäfigen bei konstanter Raumtemperatur von 21—23° einzeln gehalten. Das Futter setzte sich wie folgt zusammen: Haferflocken 500 g, Lebertran 15 g, Trockenhefe 30 g, Trockenmilch 100 g, Salz nach MCCOLLUM 15 g, Wasser 1000 cm³. Diese Nährmittel wurden zu einem Brei vermischt und einmal kurz aufgekocht. Der so entstandene Brei ließ sich gut einteilen und abwiegen. Auch war es leicht möglich, wäßrige Lösungen von Substanzen mit dem Brei zu vermengen und diese Substanzen mit dem Brei den Tieren zuzuführen. 1—2 mal in der Woche erhielten die Ratten Salat- oder Löwenzahnblätter als Beikost.

Während der Versuche wurden die Tiere *jeden Tag* gewogen und täglich für jede Ratte die Futtermenge neu festgesetzt. Hatte z. B. ein Tier am Tag vorher 50 g gewogen, 10 g Futter erhalten und wog es am darauf folgenden Tage 55 g,

dann wurde die Futtermenge für den nächsten Tag auf 8 g reduziert. Hatte eine Ratte umgekehrt einen Gewichtsabfall auf 45 g innerhalb der letzten 24 Std gezeigt, dann wurde für die nächsten 24 Std wieder eine größere Futtermenge gegeben. Besonders in letzterem Falle gelang es in den späteren Stadien der Unterernährung oft nur sehr schwer bzw. gar nicht, den Gewichtsverlust wieder wettzumachen. Die Tiere starben dann auch bei wesentlicher Vergrößerung der Futtermenge ohne ersichtliche Todesursache.

Ergebnisse.

Zu einer Nachprüfung der VERZÄRSchen Versuche beabsichtigte ich, zunächst eine Anzahl von Tieren 6 Monate lang in der geschilderten Art bei calorischer Unterernährung zu halten und im Anschluß daran die Gewichtsverhältnisse bei Ernährung mit beliebigen Futtermengen zu beobachten. Von je 20 Männchen und Weibchen konnten 9 Weibchen und 6 Männchen 6 Monate lang auf einem Gewicht von 50 g gehalten werden. Die anderen Tiere gingen während des Versuches ein; eine bestimmte Zeitperiode, in der die Ratten besonders gefährdet gewesen wären, war nicht erkennbar. Anschließend erhielten die Tiere Futter in beliebiger Menge und erreichten nach einer Fütterungsperiode mit beliebigen Futtermengen in 6 Monaten folgende Gewichte:

Weibchen. 205, 225, 170, 180, 210, 220, 160, 255, 195; Durchschnitt: 202.

Männchen. 280, 300, 260, 270, 350, 430; Durchschnitt: 315.

Gleichaltrige Kontrolltiere, die während ihres ganzen Lebens Futter ad libitum bekommen hatten, hatten während dieser Zeit folgende Gewichte erreicht:

Weibchen. 215, 260, 170, 240, 205, 160, 180, 245, 170, 200; Durchschnitt: 205.

Männchen. 250, 280, 340, 270, 280, 295, 260, 320, 440, 290; Durchschnitt: 303.

Bei der starken Streuung des Endgewichte sind die geringen Differenzen der Durchschnittswerte bedeutungslos. Es geht jedoch aus diesen Versuchen hervor, daß die Ratten, die vorher gehungert haben, kein besonderes Riesenwachstum zeigen. — Die Kontrolltiere hatten ihr Endgewicht fast stets schon nach 6 Monaten, am Ende der Hungerperiode der Versuchstiere, erreicht, d. h. zu einer Zeit, als letztere noch 50 g wogen.

Mit weiteren Versuchstieren gelang es, je 6 Männchen und Weibchen bis zu 12 Monaten auf einem Anfangsgewicht von 50 g durch chronische Unterernährung zu erhalten, ferner konnten 3 Weibchen und 4 Männchen 15 Monate auf einem Anfangsgewicht von 50 g gehalten werden. Diese Tiere bekamen alle nach dieser Periode 8 Monate lang Futter ad libitum und erreichten folgende Gewichte:

Nach 12monatiger Unterernährung

Weibchen. 210, 155, 220, 190, 230, 160; Durchschnitt: 194.

Männchen. 300, 285, 270, 270, 340, 320; Durchschnitt: 298.

Nach 15monatiger Unterernährung

Weibchen. 170, 175, 190; Durchschnitt: 178.

Männchen. 245, 400, 280, 350; Durchschnitt: 319.

Bei der 15 Monate dauernden Unterernährung waren von insgesamt 28 Tieren 21 zugrunde gegangen, 7 Tiere haben jedoch die chronische Unterernährung überlebt. Bei der anschließenden Periode mit beliebig viel Futter zeigte sich ebenfalls kein Riesenwachstum, doch wurde auch hier wieder das Gewicht normaler Tiere erreicht. 3 Weibchen, die 12 Monate unterernährt worden waren und anschließend die oben genannten Gewichte bei beliebigen Futtermengen erreicht hatten, wurden mit normalen Männchen gepaart und warfen eine normale Anzahl gesunder Junge (6, 5 und 8 Junge). Dies stimmt mit den Ergebnissen von VERZÁR nach 5—6monatigem Hungern überein. Auch die Einzelheiten des Gewichtsanstiegs in der Periode mit beliebiger Nahrungszufuhr weichen prinzipiell nicht von den VERZÁRSchen Ergebnissen ab.

Nach 8monatigem Hungern sehen Tiere von 50 g fast so aus wie 4 Wochen alte Ratten des gleichen Gewichts, nur besitzen sie im ganzen ein etwas struppigeres Fell.

Röntgenaufnahmen des Skelets von Ratten nach 8monatiger Unterernährung lassen erkennen, daß das Skelet einer normalen Ratte, im Alter von 4 Wochen, deutlich kalkärmer war als das einer Ratte, die 8 Monate lang unterernährt wurde. Der Kalkgehalt der Knochen verhält sich danach so, wie es dem Alter, nicht wie es dem Gewicht des Tieres entspricht.

In einer weiteren Versuchsserie erhielten 12 weibliche Ratten im Alter von 4 Wochen 1 Jahr lang konstant dieselbe Futtermenge, nämlich 15 g pro Tag. Anstatt daß das Gewicht der Tiere konstant gehalten wurde, wie in den oben genannten Versuchen, wurde hier die Futtermenge stets gleich bemessen. Diese Tiere zeigten nach einem Jahr folgende Gewichte:

90, 110, 95, 150, 135, 105, 120, 125, 100; Durchschnitt: 114 (3 Tiere starben während des Versuches).

Danach bekamen die Tiere 6 Monate lang Futter nach Belieben und hatten dann folgende Endgewichte erreicht:

200, 205, 200, 240, 225, 210, 205, 190, 220; Durchschnitt: 211.

Auch diese Tiere zeigten also, wie nach den vorhergehenden Versuchen nicht anders zu erwarten war, die Endgewichte normaler Ratten dieses Alters.

In einer besonderen Versuchsreihe wurde der Einfluß der *Kastration* untersucht. Die Tiere wurden im Alter von 4—5 Wochen bei einem Gewicht von 50 g kastriert. Die Entfernung der Ovarien bzw. der Testes wurde bei Eröffnung der Bauchhöhle ohne besondere aseptische Vorichtsmaßnahmen vorgenommen. Sämtliche Tiere überlebten den

Eingriff. Auch diese Tiere hatten nach 9monatigem Hungern ihre Wachstumsfähigkeit nicht verloren. Sie erreichten in einer anschließenden Periode mit einer beliebigen Futterzufuhr folgende Gewichte (Ausgangsgewicht nach der Hungerperiode ebenfalls 50 g):

Weibchen. 160, 180, 205, 220, 200, 190; Durchschnitt: 193.

Männchen. 265, 275, 230, 220; Durchschnitt: 248.

Diese Gewichtsverhältnisse waren dieselben wie bei kastrierten Tieren, die nach der Kastrierung im Alter von 4—5 Wochen normal ernährt wurden. Während der Unterernährung, 3 Monate nach Beginn des Versuches, fraßen die kastrierten Tiere im Durchschnitt 11 g pro Tag und behielten bei dieser Futtermenge ihr Gewicht von 50 g bei. Im Gegensatz dazu brauchten die nicht kastrierten Ratten im Durchschnitt 14,5 g pro Tag, um dasselbe Gewicht beizubehalten. (Jede dieser Zahlen stellt den Durchschnittswert von 6 Tieren und 4 Futtertagen dar.) Diese Differenz ist signifikant.

Um den Einfluß von Giften auf die Wachstumsfähigkeit zu studieren, verwendeten wir allgemein zell- und plasmaschädigendes Gift, nämlich Quecksilber in Form des Sublimates, und zwei cytostatisch wirkende Stoffe: Colchizin und Äthylurethan. In Vorversuchen stellten wir fest, daß Urethan in Dosen von 300 mg/kg, Colchizin in Dosen von 4 mg/kg und Sublimat in einer Menge von 100—200 mg/kg längere Zeit vertragen wurde, ohne durch akute Vergiftung zum Tode zu führen. Durch eine 6monatige Verfütterung dieser Substanzen mit dem Futter und gleichzeitige Unterernährung in der oben geschilderten Art gelang es nicht, die Wachstumsfähigkeit abzuschwächen. Wurde nach 6 Monaten die Verabreichung des Giftes abgesetzt, dann erreichten die Tiere nach einer 6monatigen Fütterungsperiode mit beliebig viel Futter das gleiche oder annähernd gleiche Gewicht wie die nicht mit Giften behandelten Tiere. Es seien hier nur die Gewichte von 6 männlichen Ratten angeführt, die 6 Monate lang Urethan bekommen haben. Endgewichte nach anschließender Fütterungsperiode mit beliebigem Futter:

250, 280, 270, 300, 220, 310; Durchschnitt: 272.

Auch die Fortpflanzungsfähigkeit war nach keiner der drei Vergiftungen später aufgehoben.

Im einzelnen konnten jedoch während des Vergiftungsverlaufes einige besondere Befunde erhoben werden. Die mit *Quecksilber* behandelten Tiere fraßen ihr Futter trotz der Unterernährung nur zögernd und hatten jeweils erst am Ende der 24stündigen Fütterungsperiode, kurz vor der Zuteilung neuen Futters, das alte ganz aufgefressen. Nach 4—6 Monaten zeigten die Tiere einen deutlichen Tremor des Kopfes und der vier Extremitäten.

Die histologischen Befunde im Kleinhirn — es fanden sich unter anderen nekrotische, mit Kalk infarzierte Herde — werden zusammen mit NÖRZEL (Pathologisches Institut Freiburg) an anderer Stelle beschrieben werden.

Das äußere Aussehen der Tiere war im Gegensatz zu den mit Urethan vergifteten Ratten oder zu den Tieren, die nur unterernährt waren, ausgesprochen krankhaft. Wurde den Tieren nach Abschluß der Unterernährung und der Quecksilbervergiftung beliebig Futter gereicht, dann fraßen sie in den ersten 14 Tagen bis zu 60 g pro Tag, nahmen aber trotzdem nur 20—25 g zu. Ratten, die nur unterernährt waren, fraßen in dieser Zeit im Durchschnitt etwa 40 g Futter, nahmen aber in 14 Tagen bis zu 65 g an Gewicht zu. Später glich sich dieser Unterschied aus, so daß auch die vorher mit Quecksilber vergifteten Tiere, wie oben schon angeführt, im großen und ganzen dieselben Gewichte wie die anderen Ratten erreichten.

Die mit *Äthylurethan* vergifteten Tiere fraßen ihr Futter sofort nach der Darreichung auf, obwohl es entsprechend den Versuchen mit Quecksilbervergiftung mit der Urethanlösung versetzt war. Nach 6 Monaten zeigten sie ein gesundes Aussehen und keinerlei krankhafte Erscheinungen. 1—2 Monate jedoch, nach dem Absetzen des Urethans, ging etwa die Hälfte der Tiere zugrunde, nachdem der zunächst rasche Gewichtsanstieg schon einige Wochen vorher aufgehört hatte. Ich nahm zunächst an, es handle sich tatsächlich um eine Minderung der Wachstumsfähigkeit durch das vorher gereichte Urethan. Die Sektion ergab jedoch, daß es sich um umfangreiche Blutungen in die Bauchhöhle auf Grund von Lebernekrosen handelte. Diese Schädigung durch längere Urethanreichung ist auch von ÖHLER und Mitarbeitern beim Menschen beschrieben worden.

Bei den mit *Colchizin* vergifteten Tieren zeigten sich öfters Geschwüre unter der Schwanzwurzel. Sie konnten nicht auf ein Verschmieren mit dem durchfälligen Kot allein zurückgeführt werden. Kontrollversuche mit Ratten, die durch dauernde Darreichung von Magnesiumsulfat durchfällig gemacht wurden, zeigten diese Erscheinungen nicht. Bei 3 von 12 Tieren entstand durch Geschwürsbildung zwischen dem Dickdarm und der Außenhaut ein Anus praeter. Aus diesem entleerte sich der Kot mehrere Wochen, ohne daß das Tier sonstige Zeichen einer Schädigung zeigte.

Diskussion.

Eine 6 Monate dauernde Unterernährung führte nicht zu Riesenzwachstum. Eine Unterernährung, bei der die Ratten dauernd auf einem Gewicht von 50 g gehalten werden, wurde wesentlich länger als 6 Monate, nämlich bis zu 15 Monaten von Ratten vertragen. Trotz dieser eingreifenden Behandlung wurde die Wachstumsfähigkeit der Tiere nicht nennenswert reduziert, obwohl normale Ratten nach dieser Zeit ihr Wachstum

längst abgeschlossen haben. Nachdem ich gefunden hatte, daß die Zeit von 6 Monaten zwar nicht zum Riesenwachstum führte, immerhin aber die normale Wachstumsfähigkeit erhalten blieb, versuchte ich Ratten solange bei calorisch unzureichender Kost zu halten, bis sich eine Minderung der Wachstumsfähigkeit etwa in Gestalt eines dauernden Zwergwuchses herausstellen würde. Dies ist nicht gelungen. Es scheint fast so, als ob die Wachstumsfähigkeit unbegrenzt erhalten bleibt und vielleicht erst dann erlischt, wenn das normale Lebensalter der Ratte erreicht ist. Eine Nachprüfung bei extrem langer Unterernährung von 12—15 Monaten würde bei völlig erbgleichen Tieren unter Umständen eine geringe Minderung der Wachstumsfähigkeit zeigen können. Unsere stark streuenden Zahlen — bei nicht erbgleichen Tieren — lassen einen solchen Schluß nicht zu.

Die Versuchsergebnisse sind nicht ohne Beziehung zu den Verhältnissen beim Menschen. Auch menschliche Säuglinge vertragen eine längere Unterernährung länger, als man im allgemeinen annimmt. So berichteten ZIPIN und Mitarbeiter, daß bei den Ernährungsverhältnissen im Iran ein großer Teil der Säuglinge im ersten Geburtsjahr sein Geburtsgewicht nicht überschreitet.

Der herabgesetzte Stoffwechsel von kastrierten Tieren drückt sich in unseren Versuchen dadurch aus, daß bei ihnen eine wesentlich geringere Nahrungsmenge als bei normalen Ratten genügt, um das Gewicht auf 50 g zu erhalten. — Die Versuche, die Wachstumsfähigkeit durch lange dauernde Darreichung von Quecksilberchlorid, Colchizin oder Urethan in akut subletalen Dosen zu schädigen, hatten keinen Erfolg.

Meine Versuchsergebnisse scheinen für die chronische Vergiftung mit unbekannten Substanzen Bedeutung zu haben. Wenn man nämlich, wie das bisher oft üblich war, eine giftige Substanz in einem gleichbleibend großen Prozentsatz der Nahrung zusetzt (z. B. BAXTER mit Pyridin), dann können die Versuchsergebnisse deswegen vieldeutig werden, weil die Tiere in ihrem Appetit geschädigt werden und mit wechselnden Nahrungsmengen auch wechselnde absolute Mengen des Giftes zu sich nehmen. Gibt man aber die Stoffe in der oben geschilderten Art mit dem Futter in pro Tag und Tier gleichen Mengen, so daß die betreffende Ratte ihr Gewicht von 50 g behält, dann sind die absoluten Mengen des Giftes pro Tag und kg Tiergewicht konstant und Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren können nicht von einer verschiedenen Nahrungszufuhr herrühren. Das gleiche ist der Fall, wenn man nicht das Gewicht des Tieres konstant hält, sondern die Unterernährung durch gleichmäßige Verfütterung einer calorisch minderwertigen Futtermenge — in unseren Versuchen 15 g — herbeiführt. Gibt man zu dieser Futtermenge eine dem Gewicht des Tieres entsprechende giftige Substanz, dann ist auch hierdurch gesichert, daß pro Tag und pro kg Tiergewicht dauernd dieselbe Menge Gift zugeführt wird. Der einzige Einwand gegen diese Methodik der chronischen Vergiftung wäre der, daß die Unterernährung allein einen bedeutenden Schaden bei den Tieren hervorruft. Dies ist aber durch die geschilderten Versuche mit ausschließlicher Unterernährung widerlegt. Diese Tiere zeigten bei nachfolgender Futterzufuhr nach Belieben keine bleibende Schädigung.

Gegenüber einer chronischen Vergiftung mit täglicher, auch mehrmaliger Injektion der giftigen Substanzen war das Verhalten bei chronischer Quecksilber-

vergiftung bemerkenswert. Die Tiere fraßen das mit Sublimat versetzte Futter gleichmäßig während des ganzen Tages, wodurch etwa die Verhältnisse bei einer chronischen gewerblichen Vergiftung imitiert wurden.

Zusammenfassung.

1. 4—5 Wochen alte Ratten im Gewicht von 45—50 g können durch calorische Unterernährung bis zu 15 Monate auf diesem Gewicht gehalten werden.

2. Bei nachfolgender Futterzufuhr in beliebigen Mengen zeigen die Tiere zwar kein Riesenwachstum, erreichen aber das Gewicht normaler Ratten; ihre Fortpflanzungsfähigkeit scheint ungestört zu sein.

3. Die gleichzeitige chronische Vergiftung mit Quecksilber, Colchizin oder Urethan während der Unterernährung bewirkt zwar spezifische Vergiftungserscheinungen, vermag aber die Wachstumsfähigkeit nicht herabzusetzen.

4. Die Bedeutung der Befunde für die Methodik der chronischen Vergiftung im Tierversuch wird diskutiert.

Literatur.

BAXTER, JAMES H.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **91**, 345 (1947). — DA COSTA, E., u. R. CLAYTON: J. Nutrit. **40**, 537 (1950). — INGLE, D. J.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 604 (1949); zit. nach den Berichten über die ges. Physiologie **144**, 258 (1951). — OHLER, R. L., J. D. HOUGHTON and W. C. MOLONEY: J. of Med. **243**, 984 (1950). — VERZÁR, F.: Helvet. med. Acta, Suppl. VI, Beilage zu Band **7**, 7 (1940/41). — ZIPIN, O., C. JÄGER, S. JÄGER u. R. WIDMAIER: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 491.

Dr. A. ENDERS, Memmingen/Allgäu, Pharmakol. Labor. der Fa. Gödecke.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. med. R. SCHOEN).

Stoffwechseluntersuchungen bei langdauernder Cholesterinfütterung am Kaninchen.

I. Mitteilung: Über das Verhalten von Eiweißfraktionen, Lipiden und Fermenten im Serum.

Von

HANS-LUDWIG KRÜSKEMPER und GÜNTER SCHULZE.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. März 1954.)

Seit der Entdeckung der Möglichkeit einer experimentellen Atheroskleroseerzeugung durch Cholesterinfütterung (ANITSCHKOW) hat sich das Augenmerk der späteren Untersuchungen im wesentlichen auf die nach Cholesterinfütterung auftretenden pathologisch-anatomischen Veränderungen gerichtet (Übersichten^{8, 21, 60, 61, 63}). Systematische Untersuchungen im Hinblick auf zusätzliche Serumveränderungen liegen kaum vor, abgesehen von dem in vielen Fällen verfolgten Verhalten des Serumcholesterins während der Fütterung.

Obwohl der anatomische Befund der experimentell-atherosklerotischen Gefäße neben einer Reihe von Übereinstimmungen auch deutliche Abweichungen von dem Bilde der beim Menschen auftretenden Atherosklerose aufweist^{19, 20, 36, 37}, und daher eine direkte Übertragung der am Tier gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen nicht statthaft erscheint, haben doch eine Reihe von Veröffentlichungen der letzten Jahre^{1, 18, 46, 53, 57, 61}, dem Cholesterin auch für die Entstehung und den Ablauf der menschlichen Atherosklerose eine ausschlaggebende Rolle zuerkennen können.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, inwieweit beim Kaninchen unter Cholesterinfütterung Abweichungen des Serumeiweiß- und Lipidgehaltes und Veränderungen der Aktivität von Serumfermenten nachweisbar sind. Das Ziel der Untersuchung ist, Hinweise zu gewinnen, die bei Übertragung auf die menschliche Pathologie eventuell die Diagnose und die Beurteilung der jeweiligen Ausprägung einer Atherosklerose erleichtern können. Die Ergebnisse gleichzeitig durchgeführter Untersuchungen des Leber- und Aortenstoffwechsels sollen a. O. dargelegt werden.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Durchschnittsgewicht von 2910 g (2200—3700 g), die bei normaler Kost gehalten wurden. Der Allgemeinzustand der Tiere wurde durch die Cholesterinfütterung nicht wesent-

lich beeinträchtigt. Im Gegensatz zu HORLICK u. KATZ³², die bei Versuchen mit Hühnchen eine erhebliche Gewichtsabnahme im Verlaufe der Fütterung fanden, trat bei unseren Versuchen eine Gewichtsabnahme von etwa 30% nur bei 2 von 13 Versuchstieren auf.

Die *Cholesterinfütterung* wurde in folgender Weise vorgenommen: mit Hilfe des Apparates „Multimix“ wurde eine Suspension von Cholesterin in Wasser (1 g Cholesterin in 10 ml Wasser) hergestellt. Von dieser täglich frisch bereiteten Suspension wurden jeweils 10 ml durch eine Schlundsonde den Versuchstieren appliziert. Vor und nach der Einspritzung der Cholesterinsuspension wurde die Sonde mit Wasser durchgespült. Fütterzeit maximal 89 Tage.

Die *Bestimmung der Serumweißfraktionen* geschah nach Trennung in der Apparatur nach ANTWEILER⁹ mit der bei HARTMANN u. SCHUMACHER²⁷ beschriebenen Methode. Das Gesamteiweiß im Serum wurde refraktometrisch ermittelt, nachdem von GIARA²⁵ gezeigt wurde, daß diese Methode auch bei lipämischen Seren Verwendung finden kann, und die Abweichung gegenüber Gesamteiweißbestimmungen nach KJELDAHL nicht mehr als $0,14 \text{ g}/100 \text{ ml} \pm 0,15\%$ beträgt.

Der *Cholesteringehalt* im Serum wurde nach SCHMIDT-THOMÉ u. AUGUSTIN⁶² bestimmt.

Die *Serumfettfraktionen* wurden adsorptionschromatographisch getrennt und gravimetrisch bestimmt^{33, 66}.

Die Aktivität der *Serumcholinesterase* wurde manometrisch nach AMMON^{6, 7} ermittelt. Temperatur 37,5°. Versuchszeit 30 min. Als Maß für die Fermentaktivität ist die Zahl an entwickelten Kubikmillimetern CO₂ pro 0,1 ml Serum in 30 min angegeben.

Versuchsansatz: 1. Hauptraum des Reaktionsgefäßes: 2,4 ml RINGER-Bicarbonat-Lösung (100 ml RINGER-Lösung + 30 ml 0,15 m Bicarbonatlösung, mit N₂—CO₂-Gemisch (95% bzw. 5%, gesättigt), 0,1 ml Serum. 2. Seitlicher Ansatz: 0,5 ml RINGER-Lösung, soviel Benzoylcholinchlorid enthaltend, daß die Endkonzentration im Gesamtansatz 10^{-2} m betrug. Begasung mit N₂—CO₂-Gemisch. Bei Versuchsbeginn, nach 15 min Temperierzeit, Einkippen des Seitenansatzes in den Hauptraum. Die Spontanhydrolyse des Substrates war so gering, daß sich eine ständige Mitmessung erübrigte.

Wir haben bei unseren Versuchen als Substrat Benzoylcholinchlorid benutzt, nachdem es sich in den letzten Jahren herausgestellt hat, daß für die Spaltung von Cholinestern im Organismus mindestens 2 sowohl ihrer Herkunft als auch ihrer Wirkungsweise und -spezifität nach völlig verschiedene Enzyme in Betracht kommen: die sogenannte spezifische Acetylcholinesterase aus Erythrocyten und Nervengewebe und die im Serum und in anderen Organen vorkommende Cholinesterase (vgl. 4, 10, 35, 42, 59, 71). Das letztgenannte Ferment wird offenbar aus schließlich in der Leber gebildet⁵⁸ und kann mit Hilfe von Benzoylcholin als Substrat isoliert bestimmt werden⁴¹. Bei Verwendung von Acetylcholin als Substrat ist eine exakte Aussage über die Serumfermentaktivität nicht möglich.

Die *Tributyrynsplaltung* wurde ebenfalls manometrisch gemessen. Ansatz wie bei der Bestimmung der Cholinesterase. Endkonzentration an Tributyrin im Gesamtansatz: $5 \cdot 10^{-3}$ m. Versuchsdauer 30 min.

Die Aktivitätsbestimmung der *Serumphosphatasen* geschah in Anlehnung an die Methoden von KIRBERGER u. MARTIN³⁴.

Bei der *statistischen Auswertung* der Ergebnisse benutzten wir die bei PÄTAU⁴⁸ angegebene Methode. Zur Bewertung: $p: 0,05-0,01$ = schwachsignifikant; $p: 0,01-0,001$ = signifikant; $p: < 0,001$ = hochsignifikant.

Ergebnisse.

1. Serumeiweißveränderungen.

Die quantitativen Veränderungen der Serumeiweißfraktionen bei länger dauernder Cholesterinfütterung sind aus den Tab. 1 und 2 ersichtlich. Der Gesamteiweißgehalt des Serums steigt um etwa 23% an. Diese

Tabelle 1.

Das Verhalten der Serumeiweißfraktionen bei langdauernder Cholesterinfütterung.
Angaben in g/100 ml Serum.

Fütterzeit (in Tagen)		Gesamt-Eiweiß	Albumin	α -Globulin	β -Globulin	γ -Globulin
Normaltiere	0	9,86	5,75	1,156	0,925	2,030
	0	6,90	4,78	1,263	0,312	0,538
	0	6,64	4,91	0,506	0,617	0,610
	0	6,75	4,65	0,635	0,790	0,675
	0	7,26	4,73	0,486	0,790	1,240
	0	6,68	5,06	0,551	0,442	0,642
	0	5,77	3,15	1,044	0,656	1,055
	0	7,91	4,10	0,541	0,490	2,150
Gefütterte Tiere	26	8,71	4,88	1,160	0,897	1,770
	41	7,91	4,21	1,110	0,860	1,730
	41	7,96	3,63	1,257	1,823	1,480
	51	11,17	3,52	0,870	3,675	3,120
	51	9,88	4,70	1,276	2,162	1,750
	62	8,92	3,78	0,785	2,010	3,030
	62	9,86	2,49	1,706	3,990	1,670
	72	8,77	4,15	1,280	2,060	1,255
	72	8,73	3,62	0,894	2,580	1,700
	79	7,93	4,05	0,618	1,870	1,395
	86	8,56	4,27	0,915	1,558	1,574
	86	8,49	4,37	0,696	2,402	1,040
	89	8,73	3,96	0,664	2,700	1,502

Tabelle 2.

Statistische Auswertung der Serumeiweißveränderungen bei Cholesterinfütterung.
(Mittelwert $\pm \sigma_M$).

	Gesamteiweiß	Albumin	α -Globulin	β -Globulin	γ -Globulin
Normal- tiere . .	7,22 $\pm$ 0,433	4,645 $\pm$ 0,268	0,723 $\pm$ 0,116	0,672 $\pm$ 0,246	1,12 $\pm$ 0,231
Gefütt. Tiere . .	8,90 $\pm$ 0,259	3,820 $\pm$ 0,164	1,000 $\pm$ 0,092	2,310 $\pm$ 0,334	1,77 $\pm$ 0,172
p	0,0035	0,015	0,1	< 0,001	0,03

Zunahme ist in erster Linie auf eine starke Erhöhung der β -Globuline (um etwa 370%) und auf eine geringere der γ -Globuline zurückzuführen. Die Menge der α -Globuline bleibt praktisch unverändert, während die der Albumine deutlich (um 18%) vermindert ist. Diese Veränderungen sind

ausgeprägt bereits nach 6wöchiger Fütterzeit nachweisbar und zeigen keine Tendenz zur Verstärkung oder zum Rückgang im weiteren Verlauf der Fütterung.

2. Serumlipidveränderungen.

In Tab. 3 sind unsere Ergebnisse hinsichtlich des Cholesteringehaltes im Serum zusammengestellt. Die Werte bewegen sich von der 6. Fütterungswoche ab zwischen 350 mg% und 1280 mg% Gesamtcholesterin,

Tabelle 3.

*Das Verhalten des Serumcholesterins unter langdauernder Cholesterinfütterung.
Angaben in mg%. Cholesterinbestimmung⁶².*

	Nr.	Fütterzeit (in Tagen)	Gesamt- Cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin- Ester	Quotient Freies Cholesterin: Cholesterinester
Normaltiere	N	0	141,8	23,6	118,2	0,20
	N 1	0	205,3	61,0	144,3	0,42
	N 2	0	189,8	49,4	140,4	0,35
	N 3	0	88,3	30,9	57,4	0,54
	N 4	0	95,3	33,5	61,8	0,54
	N 5	0	111,2	24,5	86,7	0,28
	N 6	0	71,2	16,9	54,3	0,31
	N 7	0	63,2	22,1	41,1	0,54
			M = 120,1	32,8	88,0	0,354
Gefütterte Tiere	V	26	152,0	32,1	119,9	0,27
	V 1	41	559,4	166,5	392,9	0,42
	V 2	41	412,9	119,8	293,1	0,41
	V 3	51	1283,7	519,5	764,1	0,68
	V 4	51	896,5	203,7	692,8	0,29
	V 5	62	755,4	251,8	503,6	0,50
	V 6	62	871,5	348,6	522,9	0,67
	V 7	72	853,0	317,8	535,2	0,59
	V 8	72	705,9	264,8	441,3	0,60
	V 10	79	556,1	166,8	389,3	0,43
	V 11	86	357,9	136,9	221,0	0,62
	V 12	86	694,8	200,0	494,8	0,40
	V 13	89	821,2	231,6	589,5	0,39
			M = 686,0	227,8	458,0	0,498

ohne daß bei längerem Füttern ein kontinuierliches Ansteigen der Werte festgestellt werden konnte. Der Normalwert erhöht sich auf durchschnittlich das 6fache. Diese Zunahme des Gesamtcholesterins verteilt sich auf das freie und das veresterte Cholesterin in der Weise, daß der Normalquotient $\frac{\text{Freies Cholesterin}}{\text{Cholesterin-Ester}}$ von etwa 0,35 auf 0,50 ansteigt, d. h. der Anteil des freien Cholesterins nimmt in größerem Maße zu als der der

Cholesterinester. Der Anstieg des Quotienten ist statistisch hochsignifikant. Dieser Befund wird verdeutlicht durch einen Vergleich der Mittelwerte. Dabei ergibt sich, daß bei den Versuchstieren das freie Cholesterin auf fast das 7fache, das Estercholesterin jedoch nur auf das 5,2fache ansteigt. Immerhin ist der Anteil des veresterten Cholesterins noch so hoch, daß von einer wesentlichen Beeinträchtigung der Estersynthese nicht gesprochen werden kann.

Tabelle 4.

Das Verhalten der Gesamtlipide, der Phosphatide und des Gesamtcholesterins im Serum bei langdauernder Cholesterinfütterung.

Angaben in mg%. Fütterzeit siehe Tab. 3. Bestimmung^{33, 66}.

	Nr.	Gesamt-Lipide	Phosphatide	Gesamt-Cholesterin	Quotient Cholesterin: Phosphatid
Normaltiere	N	453,8	176,6	70,8	0,40
	N 1	874,8	527,5	175,6	0,33
	N 2	671,8	406,3	93,6	0,23
	N 3	416,9	215,5	73,3	0,34
	N 4	324,0	147,5	54,8	0,37
	N 5	515,0	332,5	38,5	0,12
	N 7	563,9	412,2	28,3	0,07
		M = 545,2	316,5	76,3	0,266
Gefütterte Tiere	V	465,2	98,4	185,4	1,88
	V 1	1669,4	832,0	373,5	0,45
	V 2	1430,4	711,8	264,0	0,37
	V 3	1418,6	567,2	376,4	0,66
	V 4	1371,7	515,2	262,4	0,51
	V 5	1580,6	686,8	438,0	0,64
	V 6	1968,1	724,0	449,5	0,62
	V 7	1232,0	338,8	598,2	1,77
	V 8	1114,1	391,0	388,8	0,97
	V 10	1186,0	561,3	414,1	0,74
	V 11	1364,2	735,6	349,6	0,48
	V 12	1468,0	773,6	425,0	0,55
		M = 1354,0	578,0	376,0	0,805

Wie aus Tab. 4 hervorgeht, ist der Cholesterin-Phosphatid-Quotient, dem von mehreren Autoren (siehe Besprechung) eine wesentliche Bedeutung für die Entwicklung und auch für die Diagnose der menschlichen Atherosklerose zugesprochen wird, bei den Versuchstieren in typischer Weise gegenüber der Norm erhöht. Der Mittelwert ($M \pm \sigma_M$) beträgt für die Normalreihe $0,266 \pm 0,0154$, für die Versuchsreihe $0,805 \pm 0,145$; $p = < 0,001$. Der Anstieg des Cholesterin-Phosphatid-Quotienten ist vornehmlich auf die Zunahme des Cholesterins (siehe oben) zurückzuführen. Der Serumphosphatidgehalt erhöht sich zwar ebenfalls, jedoch nicht in einem dem Cholesterin entsprechenden Verhältnis.

Die Veränderungen der restlichen Serumlipidfraktionen, der Neutralfette, der freien Fettsäuren, der Kohlenwasserstoffe und Wachse und der sogenannten „unbekannten Substanzen“ sind aus der Tab. 5 zu ersehen. Es tritt sowohl bei den Neutralfetten, als auch bei den sogenannten

Tabelle 5.

Veränderungen des Serumgehaltes an Neutralfett, Kohlenwasserstoffen und Wachsen, freien Fettsäuren und der sogenannten „unbekannten Substanzen“ im Verlaufe langdauernder Cholesterinfütterung.

Bestimmung^{33, 66}. Angaben in mg%. Fütterzeit siehe Tab. 3.

	Nr.	Neutralfett	Kohlenwasserstoffe und Wachse	Freie Fettsäuren	„Unbekannte Substanzen“
Normaltiere	N	60,7	71,8	9,1	64,8
	N 1	78,8	11,0	37,2	44,7
	N 2	71,9	53,1	2,7	44,2
	N 3	55,9	31,4	12,1	28,7
	N 4	57,4	46,0	—	27,3
	N 5	34,9	26,0	5,7	57,8
	N 7	54,7	6,4	13,2	49,1
Gefütterte Tiere	V	63,0	50,5	9,5	58,4
	V 1	188,0	138,7	38,2	99,0
	V 2	263,8	118,7	∅	97,5
	V 3	165,8	25,8	∅	101,0
	V 4	365,6	73,2	∅	159,6
	V 5	253,6	39,0	∅	225,4
	V 6	337,2	98,0	∅	—
	V 7	151,4	63,8	∅	164,2
	V 8	174,0	65,2	∅	107,2
	V 10	137,8	61,3	∅	107,7
	V 11	142,8	50,0	∅	96,0
	V 12	164,4	67,6	∅	112,4
	M _N :	59,2	35,1	—	45,3
	σM _N :	3,85	8,96	—	5,21
	M _V :	200,8	72,3	—	120,5
	σM _V :	25,9	9,62	—	13,7
	p :	< 0,001	0,011	—	< 0,001

„unbekannten Substanzen“ ein statistisch signifikanter Anstieg auf. Bei den Neutralfetten hat man den Eindruck, daß ein gewisses Maximum zwischen der 6. und 9. Fütterungswoche erreicht wird und daß es später zu einem vielleicht mit der Erhöhung der Serumlipase im Zusammenhang stehenden Abfall auf jedoch immer noch über den normalen liegende Werte kommt. Die sogenannten „unbekannten Substanzen“ lassen dieses Verhalten nicht erkennen.

Entsprechend den Zunahmen in den einzelnen Lipoidfraktionen ist natürlich auch der Gesamtlipidgehalt des Serums von 545,2 mg% auf 1354,0 mg% angestiegen. Der Phosphatidgehalt ist dabei von 58,1% auf

42,7% des Gesamtlipidgehaltes abgefallen, während das Cholesterin eine relative Zunahme von 14,0% auf 27,7% der Gesamtlipide und das Neutralfett eine Zunahme von 10,8% auf 15,3% erfahren hat. Kohlenwasserstoffe und Wachse sowie die unbekannten Substanzen haben zwar absolut auch eine Zunahme zu verzeichnen, jedoch ist ihr relativer Anteil am Gesamtlipidgehalt unverändert. Auffällig ist, daß nach einer Fütter-

zeit von über 6 Wochen keine freien Fettsäuren mehr nachgewiesen werden konnten.

Die Werte für Cholesterin wurden einmal im Serum direkt und zum andern im Bloor-Extrakt bestimmt. Die gewonnenen Werte decken sich nicht; im Bloor-Extrakt wurden die kleineren Werte gewonnen. Die Differenz der gewonnenen Werte ist dem β -Globulingehalt im Serum korreliert. Der Korrelationskoeffizient dieser Korrelation beträgt $+0,54$ bei einer Standard-Abweichung vom 0-Wert von $0,258$ (vgl. Abb. 1). Der Koeffizient ist größer als die doppelte Standard-Abweichung und damit signifikant²⁹.

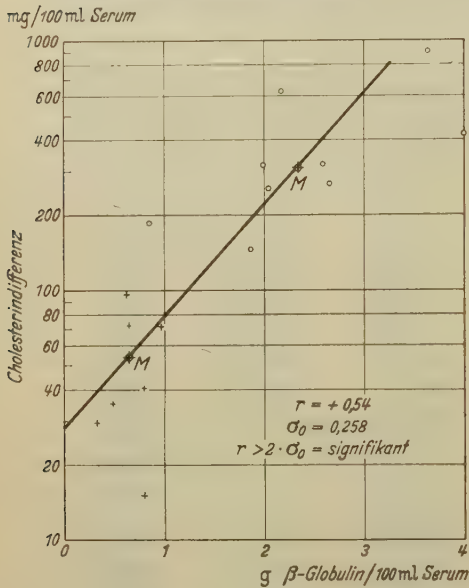


Abb. 1. Korrelation der Differenz des Cholesterin-
gehaltes im Serum zwischen Bloor- und Digitonin-
Methode zu dem β -Globulingehalt des Serums.
Abszisse: β -Globulingehalt in g/100 ml Serum.
Ordinate: Cholesterindifferenz in mg/100 ml Serum.
Ausgezogene Linie: Korrelationskoeffizient.
Normale Tiere: +; gefütterte Tiere: o.

3. Das Verhalten von Serumfermenten.

In Tab. 6 sind unsere Ergebnisse hinsichtlich der Serum-
Phosphatasen, der Cholinesterase

und der -Lipase zusammengefaßt. Für die Phosphatasen ließ sich keine sichere Änderung der Aktivität feststellen. Es konnte zwar in der Zeit zwischen dem 40. und 50. Fütterungstag eine starke Erhöhung der Werte für die saure Phosphatase beobachtet werden, inwieweit diesem Befund jedoch eine Bedeutung zukommt, läßt sich zur Zeit mit Sicherheit nicht sagen und ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Die Aktivität der Serumcholinesterase blieb während der ersten 10 Fütterungswochen unverändert normal. Erst in den letzten Versuchswochen kam es zu einem Anstieg der Aktivität, der sowohl gegenüber den Werten bis zum 62. Fütterungstag, als auch gegenüber den Normalwerten signifikant ist (p für V_7-V_{13} gegenüber $N-N_7$: $< 0,001$; gegenüber V_1-V_6 : $0,0025$).

Im Gegensatz zu den bisher genannten Fermenten ergab die Bestimmung der Tributyrinspaltung eine schon nach kurzer Fütterungszeit nachweisbare Zunahme auf etwa das 3,5fache. Diese Steigerung der Tributyrinspaltung geht angenähert dem Verhalten der sauren Phosphatase (siehe oben) parallel, insofern als auch die Lipaseaktivität ein Maximum zwischen dem 40. und 50. Fütterungstag aufweist.

Tabelle 6.

Das Verhalten von Serumfermenten bei langdauernder Cholesterinfütterung.

Fütterzeit siehe Tab. 3. Mittelwerte aus Doppelbestimmungen. Angaben für Tributyrinspaltung und Cholinesterase in Kubikmillimeter CO₂/30 min/0,1 ml Serum; für die Phosphatasen in KING-ARMSTRONG- bzw. GUTMAN-Einheiten.

	Nr.	Tributyrin- spaltung	Cholinesterase	Phosphatase alkalisch	Phosphatase sauer
Normaltiere	N	23,0	27,0	12,8	6,2
	N 1	42,0	22,0	4,8	15,6
	N 2	27,0	33,5	9,9	12,4
	N 3	39,5	24,0	3,8	4,8
	N 4	37,0	25,5	3,2	4,8
	N 6	98,0	23,0	5,6	5,2
	N 7	57,0	31,0	6,0	2,6
Gefütterte Tiere	V	138,0	—	5,2	3,6
	V 1	298,0	23,0	11,6	26,6
	V 2	280,0	16,5	11,8	21,8
	V 3	185,0	17,5	3,8	19,0
	V 4	286,0	31,0	8,2	18,6
	V 5	43,5	29,5	6,0	9,4
	V 6	66,5	33,0	2,2	11,0
	V 7	206,5	42,5	4,0	5,6
	V 8	53,0	45,5	2,6	3,2
	V 10	93,5	36,5	1,0	5,2
	V 11	118,5	45,0	13,6	9,0
	V 12	217,5	40,0	10,0	10,4
	V 13	88,5	30,5	9,0	8,2
	M _N :	46,2	26,5	6,58	7,37
	σM _N :	9,07	1,60	—	1,37
	M _V :	159,2	32,6	6,85	11,65
	σM _V :	25,4	2,84	—	2,07
	p :	< 0,001	0,07	—	0,1

Besprechung der Ergebnisse.

Bei der Untersuchung des Verhaltens der Serumeiweißfraktionen im Verlaufe länger dauernder Cholesterinfütterung ergab sich als auffälligster Befund eine erhebliche Steigerung der β -Globuline. Auch klinische Arbeiten berichten über eine signifikante Zunahme dieser Fraktion vorzugsweise bei Erkrankungen, bei denen eine Atherosklerose häufig beobachtet wird^{61, 15}.

Dieser Befund ist auf die bekannte Vehikelfunktion der β -Globuline für Cholesterin^{12, 13}, besonders der β_1 -Lipoglobulinfraktion die etwa 45% Cholesterin gebunden enthält⁵⁰, zurückzuführen. Ob diese „ β -Globulinzunahme“ lediglich durch eine Steigerung des gebundenen Cholesterins oder aber durch eine echte Eiweißvermehrung zustande kommt, müssen Untersuchungen an der isolierten Fraktion zeigen. Wir halten es jedoch für unwahrscheinlich, daß die Proteinkomponente des β_1 -Lipoproteins, die nur 25% des Komplexes ausmacht, in der Lage ist, Cholesterin in 5–6fach erhöhtem Maße zu binden, da doch die Bindungskapazität des Eiweißes durch die Zahl der am Molekül vorhandenen lipophilen Gruppen festgelegt sein dürfte.

Die physiologische Bedeutung der β -Globulinzunahme liegt darin, daß durch sie eine große Stabilität des Serums erreicht wird⁷⁰. Eine weitere Stabilitätserhöhung, besonders des Cholesterins im Serum, die eine Ausbildung atherosklerotischer Prozesse erschweren soll, wäre durch eine Albuminzunahme zu erreichen⁵². Unsere Versuche zeigten dagegen eine Abnahme des Albumingehaltes um fast 20%. Worauf dieser Befund beruht, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Albumine offenbar ausschließlich in der Leber gebildet werden^{69, 40}, wäre zu diskutieren, ob die im Verlaufe der Cholesterinfütterung entstehende Leberverfettung zu einer Funktionsstörung im Sinne einer geschädigten Eiweißsynthese führt, oder aber ob die Eiweißsynthese einfach zugunsten einer gesteigerten Phosphatidproduktion eingeschränkt wird.

Auch hinsichtlich der Ursache der von uns beobachteten Zunahme der γ -Globuline sind zur Zeit lediglich Vermutungen möglich. Das klinische Schrifttum weist keine Angaben über eine solche γ -Globulinerhöhung im Zusammenhang mit arteriosklerotischen Prozessen auf. Wir möchten annehmen, daß die Ursache für unsere Befunde in einer beim Kaninchen sehr ausgeprägten, im Rahmen der menschlichen Atherosklerose jedoch vermißten Beteiligung des retikulo-endothelialen Systems⁵, dessen wichtige Rolle bei der Bildung der γ -Globuline seit langem bekannt ist²⁸, liegt. Gerade die Anreicherung von Lipiden in Zellen des retikulo-endothelialen Systems im Verlaufe experimenteller Atheroskleroseentwicklung beim Kaninchen und das Fehlen entsprechender Veränderungen beim Menschen deuten auf grundlegende Differenzen in der Pathogenese der experimentellen und der menschlichen Atherosklerose.

Die Rolle des Plasmacholesterins bei der Entwicklung der experimentellen und der menschlichen Atherosklerose ist keineswegs klar. Seine Bedeutung wurde aus mehreren Beobachtungen geschlossen. Die wichtigsten Punkte für diese Schlußfolgerungen waren, daß die atherosklerotischen Veränderungen an der Gefäßwand reich an Cholesterin sind³⁰ und daß es niemals gelungen ist, atheroskleroseähnliche Veränderungen im Tierexperiment ohne Zufuhr von Cholesterin zu erzeugen, vielleicht mit Ausnahme der durch Östrogene hervorgerufenen sogenannten Spontanatherosklerose am Hühnchen^{17, 31}, die aber insofern von den durch Cholesterin

erzeugten Veränderungen verschieden ist, als die betroffenen Gefäße nur sehr wenig Cholesterin enthalten^{17, 49}. Andere Beobachtungen über die Koinzidenz der Atherosklosehäufigkeit mit Erscheinungen von Hypercholesterinämie wie bei Myxödem¹¹, Diabetes mellitus⁴⁵, Nephrose⁶⁷ und familiärer Hypercholesterinämie¹⁴, führten zu den gleichen Schlüssen, wie auch von klinischer Seite nachgewiesen wurde, daß Erscheinungen der Atherosklerose (z. B. Myokardinfarkt) verbunden sind mit gegenüber der Altersnorm erhöhten Plasmacholesterinspiegel²⁴. Schließlich wurden in die Betrachtungen Beobachtungen einbezogen, die zeigten, daß die Atherosklosehäufigkeit in Populationen, die eine cholesterinarme Nahrung aßen, wesentlich geringer war^{56, 68}. Wenn auch nach allen diesen Beobachtungen an dem Einfluß des Plasmacholesterins auf die Entwicklung atherosklerotischer Gefäßveränderungen kein Zweifel sein kann, so besteht doch weitgehend Unklarheit darüber, wie das erhöhte Plasmacholesterin mit der Entwicklung dieser Veränderungen zusammenhängt. Es liegen Befunde vor, die physiko-chemische Änderungen an den Blutlipiden selbst und in ihrer Eiweißbindung dafür als Ursache wahrscheinlich machen^{2, 26}, in der Weise, daß quantitative Veränderungen im Mischungsverhältnis der Blutlipide zu Änderungen der Eiweiß-Lipidkomplexbindungen führen können^{2, 3}, die in der nachgewiesenen Bildung von spezifischen β -Lipoproteinen ihren Ausdruck finden²⁶.

Neben dem bekannten Anstieg des Cholesterins im Serum unter länger dauernder Cholesterinfütterung fanden wir einen Anstieg des gesamten Lipidgehaltes im Serum, verbunden mit einer Vermehrung aller untersuchten Lipidfraktionen. Unterschiede im Mischungsverhältnis der Lipide waren nur gering ausgeprägt; sie betrafen das Cholesterin, welches auch relativ deutlich vermehrt war, den Phosphatidgehalt, der relativ vermindert war, und das Neutralfett mit geringer relativer Zunahme. Alle übrigen Fraktionen der Serumlipide waren zwar entsprechend dem erhöhtem Gesamtlipidgehalt erhöht, nahmen jedoch an den relativen Verschiebungen nicht teil, mit Ausnahme der im Serum frei vorkommenden Fettsäuren, die mit zunehmender Fütterungszeit aus dem Serum völlig verschwanden. Ob Beziehungen zwischen dem Verhalten der Neutralfette bzw. der freien Fettsäuren zu dem gefundenen Anstieg der Lipaseaktivität bestehen, bleibe dahingestellt, erscheint uns aber möglich. Entsprechend den Veränderungen am Phosphatid und am Cholesterin wurde auch der Quotient Cholesterin/Phosphatid unter der Cholesterinfütterung verändert und zwar im Sinne eines Anstieges von 0,266 auf 0,805.

Eine Deutung der bei Cholesterinfütterung auftretenden Hyperlipämie ist nicht leicht zu geben. Sie zeigt Züge, wie sie bei Fettresorption, bei Stoffwechselsteigerung und bei der experimentellen Entwicklung von Fettlebern^{64, 65} beobachtet wurden. Dabei ist bemerkenswert, daß die gefundenen Veränderungen bereits nach kurzer Fütterungszeit ausgeprägt sind und mit längerer Fütterungszeit keine Veränderungen mehr erfahren.

Für die quantitative Bestimmung der Serumlipide wurde das Serum mit Alkohol-Äther extrahiert. Der in diesem Extrakt gefundene Cholesterinwert differiert von dem direkt bestimmten. Die Differenz der beiden

Werte wächst mit der Cholesterinfütterung an und ist der β -Globulinzunahme signifikant korreliert. Die Cholesterindifferenz erfährt auch bei längerer Cholesterinfütterung keine Änderung.

Nach diesen Untersuchungen kommen wir zu dem Schluß, daß durch die Cholesterinfütterung beim Kaninchen tiefgreifende Störungen im Fettstoffwechsel gesetzt werden, deren Ausdruck Hyperlipämie, Dyslipidämie und Veränderungen im physiko-chemischen Eiweiß-Lipidgefüge sind. Besonders das Auftreten einer Neutralfettvermehrung im Serum bestärkt uns in dieser Ansicht, da in früheren Untersuchungen nachgewiesen werden konnte, daß der Neutralfettspiegel im Blut in enger quantitativer Korrelation zum Gehalt an Phosphatiden und an Cholesterin steht, eine Korrelation, die unter den Bedingungen der Cholesterinfütterung am Kaninchen deutlich gestört ist. Die Verschiebung des Verhältnisses vom freien zum veresterten Cholesterin zu Gunsten des freien Cholesterins wird als Ausdruck einer Leberparenchymschädigung gewertet, aber auch bei Nephrosen gefunden^{64, 51}. Ob unter den hier eingehaltenen Bedingungen solche Beziehungen vorliegen, sollen weitere Untersuchungen klären. Vorerst erscheint es jedoch wahrscheinlicher, daß der Anstieg des freien Cholesterins im Serum der massiven Überschwemmung des Organismus mit freiem Cholesterin zuzuschreiben ist. Beziehungen zwischen dem Gehalt an freiem Cholesterin und Phosphatid, wie sie von POPJAK⁵⁴ beschrieben wurden, fanden wir nicht.

Die Untersuchung verschiedener Serumfermente, die alle der Leber entstammen dürften (Cholinesterase²³, Phosphatasen^{55, 47}, Lipase²²), ergab für die alkalische Phosphatase keine Aktivitätsänderung im Verlaufe der Cholesterinfütterung. Im Gegensatz dazu war die Aktivität der sauren Phosphatase in der 6. und 7. Fütterungswoche, die der Cholinesterase am Ende der Fütterungsperiode und die der Lipase ständig erhöht. Diese Ergebnisse erlauben den Schluß, daß eine tiefgreifende Schädigung der Leberfunktion durch die Überschwemmung nicht sehr wahrscheinlich ist, da Leberfunktionsstörungen mit einer Aktivitätsabnahme der letztgenannten Fermente einherzugehen pflegen. Die Aktivitätssteigerung der Phosphatase steht möglicherweise mit den Erfordernissen für eine erhöhte Phosphatidbildung im Zusammenhang, insofern als durch MEYERHOF und GREEN^{43, 44} bewiesen wurde, daß das Ferment zur Phosphorylierung von Glycerin, und andere in der Lage ist. Da über das physiologische Substrat der Serumcholinesterase bis heute noch nichts Sicheres bekannt ist, läßt sich für die Bedeutung des Cholinesteraseanstiegs zur Zeit noch keine ausreichende Erklärung geben. Die Steigerung der Tributyrinspaltung ist wohl als reaktives Geschehen im Rahmen der allgemeinen Neutralfettzunahme zu betrachten.

Eine von mehreren Autoren beschriebene Parallelität im Verhalten von Serumalbumin und Cholinesteraseaktivität^{38, 39} konnten wir nicht

feststellen. Trotz eines deutlichen Abfalles des Albumins kam es nicht zu einer entsprechenden Verminderung der Fermentaktivität. Wir glauben vielmehr annehmen zu dürfen, daß der in der Leber vorhandene beträchtliche Vorrat an Ferment¹⁶ hinreicht, um auch bei einer leichten Beeinträchtigung der Leberfunktion (Leberverschattung), wie sie im Verlaufe der Cholesterinfütterung entsteht, einen normalen Serumspiegel aufrecht zu erhalten.

Zusammenfassung.

1. Bei langdauernder Cholesterinfütterung beim Kaninchen kommt es zur Abnahme von Serumalbuminen und zur Zunahme von β - und γ -Globulinen.

2. Der Gesamtlipidgehalt des Serums steigt unter Anstieg aller bestimmten Fraktionen an. Dabei kommt es zu Verschiebungen im relativen Mischungsverhältnis der Fraktionen, an denen Phosphatide, Cholesterin und Neutralfette zu Ungunsten der ersten und zu Gunsten der beiden letztgenannten Fraktionen teilnehmen, während Kohlenwasserstoffe und Wachse sowie eine Fraktion unbekannter Substanzen zwar ansteigen, jedoch an den relativen Verschiebungen nicht teilhaben.

3. Die Cholesterinwerte, welche einmal im Serum direkt und zum andern im Alkohol-Ätherextrakt des Serums bestimmt wurden, stimmen nicht überein. Ihre Differenz steht in signifikanter Korrelation zum β -Globulingehalt des Serums.

4. Unter den gewählten Bedingungen nimmt die Serumlipase signifikant an Aktivität zu, während saure und alkalische Phosphatase keine meßbaren Aktivitätsänderungen erfahren. Die Aktivität der Cholinesterase steigt erst am Ende der Fütterungsperiode an.

5. Die erhobenen Befunde werden diskutiert; sie sind wahrscheinlich Ausdruck einer tiefgreifenden Fettstoffwechselstörung, verbunden mit physiko-chemischen Veränderungen im Gefüge der Serumprotein-Lipidkomplexe.

Literatur.

- ¹ ADLERSBERG, D., A. D. PARETS and E. P. BOAS: Proc. Amer. Diab. Assoc. **9**, 171 (1950). — ² AHRENS, E. H. jr.: Bull. New York Acad. Med. 2. Ser. **26**, 205 (1950). — ³ AHRENS, E. H., jr., and H. G. KUNKEL: J. of Exper. Med. **90**, 409 (1949). — ⁴ ALLES, G. A., and R. C. HAWES: J. of Biol. Chem. **133**, 375 (1940). — ⁵ ALTSCHUL, R.: Selected Studies on Arteriosclerosis. Springfield 1950. — ⁶ AMMON, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933). — ⁷ AMMON, R.: in BAMANN-MYRBÄCK, Methoden der Fermentforschung. Leipzig 1940. — ⁸ ANITSCHKOW, N.: Erg. inn. Med. **28**, 1 (1925). — ⁹ ANTWEILER, H. J.: Kolloid. Z. **115**, 130 (1949). — ¹⁰ AUGUSTINSSON, K. B.: Ark. Kemi (Stockh.) **18A**, No. 24 (1944). — ¹¹ BARTELS, E. C., and G. BELL: Trans. Amer. Ass. Stud. Goiter **1939**. — ¹² BENNHOLD, H.: Kolloidlehre **1935**, p. 474. — ¹³ BENNHOLD, H., u. H. OTT: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 475. — ¹⁴ BLOOM, D., S. R. KAUFMAN and R. A. STEVENS: Arch. of Dermat. **45**, 1 (1942). — ¹⁵ BOWEN, T. J.: Brit. J. Exper. Med. **32**, 70 (1951). — ¹⁶ BRAUER, R. W., and M. A. ROOT: Amer. J. Physiol. **149**, 611 (1947). — ¹⁷ CHAIKOFF, J. F., S. LINDSEY, F. W. LORENZ and

- C. ENTENMAN: *J. Exper. Med.* **88**, 373 (1948). — ¹⁸ COPPO, M.: *Sci. med. ital.* **2**, 30 (1951). — ¹⁹ DUFF, G. L.: *Arch. of Path.* **20**, 81, 259 (1935). — ²⁰ DUFF, G. L.: *Arch. of Path.* **22**, 161 (1936). — ²¹ DUFF, G. L.: and G. C. McMILLAN: *Amer. J. Med.* **11**, 92 (1951). — ²² FIESSINGER, N., et A. GAJDOS: *Ann. Méd.* **38**, 405 (1935). — ²³ GAJDOS, A.: *Expos. ann. de Biochim. Méd.* **11**, 203 (1950). — ²⁴ GERTLER, M. M., S. M. GARN and J. LERMAN: *Circulation (New York)* **2**, 205 (1950). — ²⁵ GIARA, L.: *Wien. med. Wschr.* **1950**, 247. — ²⁶ GOFMAN, J. W., H. B. JONES, F. T. LINDGREN, T. P. LYON, H. A. ELLIOT and B. STRISOWER: *Circulation (New York)* **2**, 161 (1950). — ²⁷ HARTMANN, F., u. G. SCHUMACHER: *Z. Naturforsch.* **5b**, 361 (1950). — ²⁸ HEINLEIN, H.: *Z. exper. Med.* **112**, 535 (1943). — ²⁹ HILL, A. B.: *Principles of Medical Statistics*. London: The Lancet Ltd. 1937. — ³⁰ HIRSCH, E. F., and G. WEINHOUSE: *Physiologic. Rev.* **23**, 185 (1943). — ³¹ HORLICK, L., and L. N. KATZ: *J. Labor. a. Clin. Med.* **33**, 733 (1948). — ³² HORLICK, L., and L. N. KATZ: *Amer. Heart. J.* **28**, 336 (1949). — ³³ KATHEN, H.: *Arch. Mikrobiol.* **14**, 602 (1949). — ³⁴ KIRBERGER, E., u. G. MARTIN: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **197**, 268 (1950). — ³⁵ LANGEMANN, H.: *Helvet. Pharmacol. Acta* **2**, C 17 (1944). — ³⁶ LEARY, T.: *Arch. of Path.* **21**, 459 (1936). — ³⁷ LEARY, T.: *Arch. of Path.* **32**, 507 (1941). — ³⁸ LEVINE, M. G., and R. E. HAYT: *Science (Lancaster, Pa.)* **111**, 286 (1950). — ³⁹ LEVINE, M. G., and A. A. SURAN: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **79**, 686 (1952). — ⁴⁰ MADDEN, S. C., and G. H. WHIPPLE: *Physiologic. Rev.* **26**, 194 (1940). — ⁴¹ MENDEL, B., D. B. MUNDALL and H. RUDNEY: *Biochemic. J.* **37**, 473 (1943). — ⁴² MENDEL, B., and H. RUDNEY: *Biochemic. J.* **37**, 59 (1943). — ⁴³ MEYERHOF, O., and H. J. GREEN: *J. of Biol. Chem.* **178**, 655 (1949). — ⁴⁴ MEYERHOF, O., and H. J. GREEN: *J. of Biol. Chem.* **183**, 377 (1950). — ⁴⁵ MILLARD, E. B., and F. H. ROOT: *Amer. J. Digest. Dis.* **15**, 41 (1948). — ⁴⁶ MORRISON, L. M., and F. W. GONZALEZ: *Geriatrics* **5**, 188 (1950). — ⁴⁷ MOYSON, F.: *Acta gastro-enterol. belg.* **14**, 77 (1951). — ⁴⁸ PÄTAU, K.: *Z. Biol.* **63**, 152 (1943). — ⁴⁹ PATERSON, J. C., S. J. SLINGER and K. M. GARTLEY: *Arch. of Path.* **45**, 306 (1948). — ⁵⁰ PETERS, J. P., and E. B. MAN: *J. Clin. Invest.* **22**, 707 (1943). — ⁵¹ PETERS, J. P., E. B. MAN, S. DURLACHER and B. KARTIN: *J. Clin. Invest.* **24**, 623 (1945). — ⁵² POLLAK, O. J.: *Geriatrics* **6**, 182 (1951). — ⁵³ POMERANZE, J., and H. G. KUNKEL: *Angiology* **1**, 503 (1950). — ⁵⁴ POPJAK, G.: *Biochemic. J.* **40**, 608 (1946). — ⁵⁵ ROCHE, J.: in *The Enzymes*, I. New York: Acad. Press 1950. — ⁵⁶ SACHS, B. A.: *Amer. Pract.* **3**, 284 (1949). — ⁵⁷ SAVINI, L. M., S. VULTERINI, G. LA GRECA u. M. PICCARDO: *Rass. clin. sci.* **27**, 111 (1951). — ⁵⁸ SAWYER, C. H.: *Science (Lancaster, Pa.)* **101**, 385 (1945). — ⁵⁹ SCHAEFER, H.: *Pflügers Arch.* **249**, 405 (1947). — ⁶⁰ SCHETTLER, G.: *Erg. inn. Med., Neue Folge* **3**, 299 (1952). — ⁶¹ SCHETTLER, G.: *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **59**, 194 (1953). — ⁶² SCHMIDT-THOMÉ, J., u. H. AUGUSTIN: *Z. physiol. Chem.* **275**, 190 (1942). — ⁶³ SCHÖNHOLZER, G.: *Erg. inn. Med.* **62**, 749 (1942). — ⁶⁴ SCHULZE, G.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **214**, 473 (1952). — ⁶⁵ SCHULZE, G., u. U. BALTZER: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **200**, 550 (1953). — ⁶⁶ SCHULZE, G., u. H. SÜDHOF: *Pflügers Arch.* **258**, 211 (1953). — ⁶⁷ STEINER, A., and B. DOMANSKI: *Amer. J. Med. Sci.* **204**, 79 (1942). — ⁶⁸ STEINER, P. E.: *Arch. of Path.* **42**, 359 (1946). — ⁶⁹ WHIPPLE, G. H.: *Amer. J. Med. Sci.* **196**, 609 (1938). — ⁷⁰ WUHRMANN, F., CH. WUNDERLY, P. DE NICOLA u. F. HUGENTOBLE: *Helvet. med. Acta* **17**, 197 (1950). — ⁷¹ ZELLER, E. A., u. A. BISSEGER: *Helvet. chim. Acta* **26**, 1619 (1943).

Dr. HANS-LUDWIG KRÜSKEMPER und Dr. GÜNTER SCHULZE,
Göttingen, Med. Univ.-Klinik.

Aus der I. Medizinischen Klinik der Städt. Krankenanstalten Karlsruhe
(Chefarzt Dozent Dr. E. VOLHARD).

Interferometrische Untersuchungen zur Stoffwechselwirkung synthetischer Antihistamine*.

Von

WOLFGANG BENSTZ.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. März 1954.)

Je nach der chemischen Konstitution besitzen synthetische Antihistaminsubstanzen neben der speziellen histaminolytischen Wirkung noch weitere wesentliche pharmakodynamische Eigenschaften, die zum Teil von therapeutischer Bedeutung sind. Mit der Einführung der „hibernation artificielle“ (LABORIT u. a.^{25, 26, 27, 21}) in Chirurgie^{22, 23}, Innere Medizin³³, Gynäkologie²⁹ und Psychiatrie^{2, 30} hat vor allem die mögliche Beeinflussung vegetativer Funktionen durch Antihistaminsubstanzen vermehrtes Interesse gefunden. In diesem Zusammenhang sollen interferometrische Untersuchungen im Tierexperiment zur quantitativen Bestimmung der Wirkung verschiedener Antihistamine auf den Basalstoffwechsel als Ergänzung klinischer und experimenteller Beobachtungen dienen.

Methodik.

Weiß männliche Ratten von 110—180 g Gewicht wurden 10 Tage vor Versuchsbeginn bei Standarddiät im thermokontanten Raum ($25 \pm 1^\circ \text{C}$) gehalten und jeweils 18 Std vor den Stoffwechsellmessungen, die nach Möglichkeit zu denselben Tageszeiten erfolgten, auf Hunger gesetzt. Sämtliche verwendeten Substanzen wurden intramuskulär injiziert (0,1 cm³/100 g Tiergewicht). Die Bestimmung der prozentualen CO₂-Abgabe mit der Atemluft erfolgte im Thermostaten bei 29° C (Indifferenztemperatur der Ratte) mit Hilfe des ZEISSschen Laboratorium-Interferometers nach den Angaben von WOLLSCHITT, BOTHE u. a.³⁵, KINDER²⁴, NOTHDURFT³¹ sowie BAHNER³ und wurde der Calorienberechnung des Energieumsatzes zugrunde gelegt. Um die biologische Streubreite der Ergebnisse möglichst klein zu halten, fand nur ein begrenztes Kollektiv von zehn „trainierten“ Ratten Verwendung. Außerdem wurden unmittelbar vor jedem eigentlichen Testversuch Umsatzbestimmungen am unbehandelten Tier vorgenommen. Die Versuchsdauer am vorbehandelten Tier erstreckte sich ebenso wie die Beobachtung am unbehandelten Tier in der Regel jeweils über 2 Std, wobei die zunächst unkorrigierten, alle 30 sec erfolgten Trommelablesungen graphisch registriert wurden. Kurvenstücke konstanter Minimalwerte über 8—10 min im steady state der Tiere wurden nach Korrektur der Werte und Berücksichtigung der Apparatekonstante (= 0,1572) als Vergleichsbasis verwendet. Mittels der interferometrisch bestimmten CO₂-Konzentration der

* Festschriftbeitrag zum 70. Geburtstag von Herrn Professor Dr. med. CURT OEHME.

Tabelle 1. Beeinflussung des Energienumsatzes bei Ratten im steady state durch Antihistaminsubstanzen (CO_2 -Produktion interferometrisch gemessen).

Ratte Nr.	Gew. g	vor Behandlung		Präparat mg/100 g Tiergew.	nach Behandlung		max. Änderung		Bemerkungen
		Liter CO ₂ /24 Std	Cal/kg 24 Std		Liter CO ₂ /24 Std	Cal/kg 24 Std	%	min. p. i.	
Phenergan.									
6	150	5,184	221,7	0,01	4,270	182,2	— 18	30	initiale Senkung (verzögerte Re- sorption)
8	140	3,974	182,1	0,01	4,390	201,2	+ 10	70	
8	140	3,199	146,6	0,1	2,650	121,5	— 17	50	
7	150	3,372	144,2	0,1	3,555	152,0	+ 6	70	
7	150	4,678	200,0	1,0	5,236	223,9	+ 12	30	
5	140	3,651	167,2	1,0	3,991	182,9	+ 9	70	15 min p. i. — 18% verzögerte Resorption
6	150	3,581	153,2	1,0	4,563	195,1	+ 27	60	
7	150	3,712	158,8	2,5	4,559	195,0	+ 23	30	
7	180	4,555	162,3	2,5	5,673	202,2	+ 24	15	initiale Senkung 30 min p. i. — 19%
5	160	3,651	146,4	2,5	4,834	193,8	+ 31	30	
7	150	3,371	144,0	2,5	4,834	206,7	+ 43	25	
10	110	4,607	268,7	5,0	5,673	330,8	+ 23	60	
9	130	3,214	156,6	5,0	5,555	274,1	+ 75	40	
Synpen.									
9	140	3,143	141,7	0,01	3,153	144,4	+ 2	70	keine Stoff- wechselwirkung
3	130	3,432	169,3	1,0	2,127	104,97	— 37	80	
2	130	3,712	183,1	1,0	2,030	100,2	— 45	45	
7	150	3,371	144,2	1,0	1,816	77,7	— 46	50	
6	125	3,432	176,1	1,0	1,685	86,51	— 50	80	
10*	115	3,555	198,3	1,0	1,467	81,85	— 59	50	
8	140	3,808	174,5	1,0	1,292	59,23	— 65	85	
4	125	4,053	208,0	1,0	1,686	85,5	— 60	90	
9	130	3,372	166,4	2,5	1,249	61,63	— 62	90	
10	115	3,808	212,4	2,5	1,249	69,67	— 67	75	
8	114	3,808	174,5	2,5	1,406	64,44	— 64	40	
7	140	3,092	141,7	2,5	1,127	51,63	— 64	40	
5	140	3,651	167,3	5,0	5,612	257,7	+ 35	120	
9	140	4,005	183,3	5,0	7,446	341,2	+ 46	120	
Tephorin.									
4	125	2,868	147,3	2,5	2,869	147,3	± 0	30	
3	125	2,686	137,8	2,5	2,686	137,8	± 0	60	
5	130	4,555	224,7	2,5	4,555	224,7	± 0	60	
5	150	4,694	200,8	2,5	4,931	210,9	+ 5	25	
2	140	3,371	154,5	2,5	3,991	182,9	+ 15	60	
1	140	3,773	172,9	2,5	4,555	208,7	+ 17	90	
1	140	3,432	157,3	5,0	6,389	258,6	+ 65	90	
2	140	3,494	160,1	5,0	5,970	273,6	+ 70	70	

* Vgl. Abb. 1.

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

Ratte Nr.	Gew. g	vor Behandlung		Präparat mg/100 g Tiergew.	nach Behandlung		max. Änderung		Bemerkungen
		Liter CO ₂ /24 Std	Cal/kg 24 Std		Liter CO ₂ /24 Std	Cal/kg 24 Std	%	min. p. i.	
Soventol.									
5	140	3,931	193,0	1,0	5,053	231,5	+ 19	30	
4	150	3,931	168,1	1,0	4,834	206,8	+ 22	30	
10	110	3,581	208,8	2,5	3,931	229,2	+ 10	70	
6	150	3,494	149,5	2,5	4,931	210,9	+ 41	40	
3	125	3,494	179,3	5,0	5,267	270,3	+ 50	20	
Soventol-CHP.									
6	150	4,271	182,6	2,5 + 1,5	5,734	245,2	+ 34	25	
3	160	5,053	202,6	2,5 + 1,5	7,507	301,0	+ 49	20	
9	150	4,834	206,8	2,5 + 1,5	8,686	371,5	+ 80	25	
Pyribenzamin.									
5	150	3,716	159,0	2,5	5,053	216,1	+ 35	30	
4	160	4,271	171,1	2,5	6,171	247,4	+ 44	30	
3	150	3,991	170,7	2,5	5,970	255,3	+ 49	30	
8	180	4,005	142,7	2,5	5,896	210,1	+ 47	40	
Antistin.									
8	150	4,559	195,0	2,5	3,712	158,8	— 18	60	
3	150	5,053	216,1	2,5	3,773	161,4	— 25	60	
7	150	4,372	186,9	2,5	4,053	173,1	— 7	70	
Multergan.									
10	150	4,367	180,1	2,5	3,974	170,0	— 6	70	
5	150	3,651	156,1	2,5	3,153	134,9	— 13	80	

Tierluft ($\approx 1\%$) — als Differenz gegenüber der zugeführten CO₂-freien Außenluft gefunden — und einem angenommenen respiratorischen Quotienten von 0,730 konnte nach Multiplikation mit dem calorischen CO₂-Wert von 6,415 Cal je 1 l CO₂ und nach Einbeziehung des Tiergewichtes der Energieumsatz in Calorien je kg und 24 Std berechnet werden. Die prozentuale Differenz der Minimalumsätze wurde für jedes Versuchspaar (bezogen auf den Ausgangswert der unbehandelten Tiere) berechnet (Tab. 1). Die Mittelwerte aus den Ergebnissen gleichartig behandelter Tiergruppen sind gesondert aufgeführt und quantitative Angaben über lytische Wirkungen der Antihistamine gegenüber Histamin, Acetylcholin und Adrenalin vergleichsweise zitiert^{15, 16} (Tab. 2). In einigen Fällen wurde die Wirkung von Neogynergen (0,1 mg/100 g T. G.) auf den Umsatz der mit verschiedenen Antihistaminen vorbehandelten Tiere beobachtet (Tab. 3).

Der Fehler der so gefundenen Stoffwechselwerte beträgt rein methodisch $\pm 2,5\%$; da aber bei Ratten reine Grundumsatzbedingungen nur sehr schwer zu erhalten sind, und im Energieumsatz auch bei strengen Maßstäben fast immer ein Teil unsichtbarer Motorik enthalten ist, sind gleiche Messungen am selben Tier kein sicherer Beweis für echte Grundumsätze. Die Annahme einer Fehlerbreite von $\pm 15\%$ für den gefundenen Einzelumsatz erscheint daher notwendig.

Tabelle 2.

Mittelwerte der Minimalumsätze bei Ratten nach synthetischen Antihistaminsubstanzen.

Präparat	Dosis mg/100 g	Mittelwerte d. prozentual. Differenz %	lytische Grenzkonzentration in mg/Liter gegenüber:		
			Histamin	Acetyl- cholin	Adrenalin
<i>Phenergan (Atosil)</i>	0,01	— 4 (2)	0,01	0,1	1,25
N-(2-Dimethyl-amino-propyl- 1-phenothiazin	0,1 1,0 2,5 5,0	— 5 (2) + 16 (3) + 30 (4) + 49 (2)			
<i>Synpen</i>	1,0	— 50 (7)	0,002	0,1	12,5
N-Dimethyl-N'-(2-pyridyl)- N'-(p-chlorbenzyl)äthyl- endiamin	2,5 5,0	— 62 (4) + 40 (2)			
<i>Tephorin</i>	2,5	+ 6 (6)	0,01	2,0	25,0
1,3,4,9,-Tetrahydro-2-methyl- 9-phenyl-2-pyridinden	5,0	+ 67 (2)			
<i>Soventol</i>	1,0	+ 20 (2)	0,05	0,1	12,5
N-Phenyl-N-benzyl-4-amino- 1-methylpiperidin	2,5 5,0	+ 25 (2) + 50 (1)			
<i>Soventol</i> + CHP	2,5 (1,5)	+ 54 (3)	0,003	0,001	
Soventol + β -Cyclohexyl-iso- propyl-methylamin					
<i>Pyribenzamin</i>	2,5	+ 43 (4)	0,02	1,0	37,5
N-Dimethyl-N'-(2-pyridyl)- N'-benzyl-äthylendiamin					
<i>Antistin</i>	2,5	— 16 (3)	0,2	5,0	37,5
N-Benzyl-N-phenylamino- methylimidazolin					
<i>Multergan (Padisal)</i>	2,5	— 9 (2)	0,005	0,01	
(Phenothiazinyl 10')-1-pro- pyl-2-N-trimethyl- ammonium					
<i>Luminal</i> (Acid. phenyl- äthylbarbituric.)	2,5	— 14 (3)			
<i>Novocain</i> (Procain)	2,5	$\pm$ 0 (3)			
NaCl	0,1 cm ³	$\pm$ 0 (3)			

() Zahl der Doppelversuche.

Ergebnisse.

An einem Kollektiv trainierter Ratten konnten in über 300 Beobachtungsstunden 61 verwertbare Doppelbestimmungen der minimalen Energieumsätze jeweils vor und nach der Behandlung mit verschiedenen

synthetischen Antihistaminsubstanzen* bei variiertem Dosierung vorgenommen werden. Hierbei spielte für die Steigerung des Umsatzes in keinem Falle eine sichtbare motorische Erregung eine Rolle. Es ist bekannt, daß die Verwendung sehr hoher Dosen starke motorische Erregung und Krämpfe auslösen kann, dieser Bereich wurde jedoch in keinem Falle erreicht. Selbst bei der verwendeten höchsten Dosierung von 5 mg/100 g T.G. zeigten einzelne Tiere lediglich ein gesträubtes Fell, blieben jedoch

Tabelle 3. Wirkung von Neo-Gynergen auf die Grundumsatzsteigerung nach Antihistaminsubstanzen.

Ratte Nr.	vor Behandlung Cal/kg /24 Std	Präparat 2,5 mg /100 g Tiergew.	nach Behandlung Cal/kg /24 Std	Stoff- wechsel- steigerung %	nach Neo-Gynergen 0,1 mg/100 g		Diffe- renz %
					Tiergew. Cal/kg /24 Std	%	
5 ¹	146,4	Phenergan	193,8	+ 31	162,5	+ 10	—21
7	162,3	Phenergan	202,2	+ 24	182,3	+ 12	—12
5	200,8	Tephorin	210,9	+ 5	213,5	+ 6	± 0
3	202,6	Soventol-CHP	301,0	+ 49	211,3	+ 4	—45
4	171,1	Pyribenzamin	247,4	+ 44	193,8	+ 12	—32
3	170,7	Pyribenzamin	255,3	+ 49	242,6	+ 42	— 7
8	142,7	Pyribenzamin	210,1	+ 47	175,7	+ 23	—24

¹ Vgl. Abb. 2.

wie die übrigen Tiere in Ruhelage und hielten die Augen geschlossen. Wie aus den tabellarisch aufgeführten Umsatzbestimmungen hervorgeht, führte *Phenergan* in der Dosierung von 0,01 und 0,1 mg zu einer leichten Senkung des Energieumsatzes; nach 1 mg war eine Steigerung des Umsatzes zu erkennen, die proportional mit der Steigerung der Dosis auf 2,5 und 5,0 mg zunahm. Die maximale Wirkung zeichnete sich hierbei nach 30—70 min ab. Nach der höheren Dosierung fiel eine initiale Senkung auf, die als Folge einer verzögerten Resorption des intramuskulären Depots gedeutet werden konnte. Für *Synpen* galten ähnliche Verhältnisse, wenngleich hier die Senkung der Minimalumsätze in einem bestimmten Dosierungsbereich deutlicher hervortrat. Nach 0,01 mg war eine sichere Wirkung nicht zu erkennen; 1,0 und 2,5 mg bewirkten eine ausgeprägte, anhaltende Verminderung der CO₂-Produktion nach 40 bis 90 min und eine Umsatzsenkung bis zu —67% (Abb. 1a u. b). Die Erhöhung der Dosis auf 5 mg führte im Vergleich zum Ruhewert zu einer Stoffwechselsteigerung um rund +50%, die im Laufe von 20 min voll ausgeprägt war. *Tephorin* ergab nach 2,5 mg keine deutliche Änderung des Ausgangswertes (geringe Steigerung), während 5 mg eine deutliche Umsatzsteigerung in derselben Größenordnung wie *Synpen* und *Phenergan* bei gleicher Dosierung hervorriefen. *Soventol* führte nach 1,0 und

* Die chemischen Bezeichnungen der verwendeten Präparate finden sich in Tab. 2.

2,5 mg zu einer leichten, nach 5 mg zu einer ausgeprägten Steigerung des Energieumsatzes. Die Reaktionen waren jeweils 20—70 min post injektionem zu erkennen. *Soventol* (2,5 mg) mit Zusatz von *CHP*¹⁷, einem

Derivat der Adrenalinreihe, führte wie erwartet werden konnte, zu einer deutlichen Steigerung. Während 2,5 mg *Pyribenzamin* den Stoffwechsel erhöhten, konnte nach 2,5 mg *Antistin* eine mäßige Senkung beobachtet werden. Ebenso führten 2,5 mg *Multergan* eine leichte Verminderung der CO_2 -Bildung herbei. Vergleichsweise wirkten 2,5 mg *Luminal* umsatzsenkend etwa im selben Ausmaß wie dieselbe Menge *Antistin*, *Multergan* oder 0,01 und 0,1 mg *Phenergan*,

jedoch geringer als 1 mg *Synpen*. 2,5 mg *Novocain* intramuskulär injiziert bewirkten ebensowenig eine feststellbare Änderung des Energieumsatzes wie die Kontrollen mit physiologischer NaCl-Lösung.

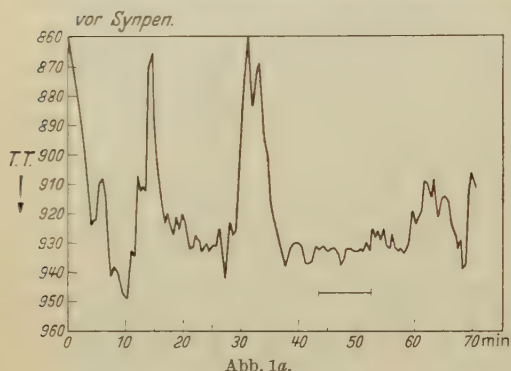


Abb. 1a.

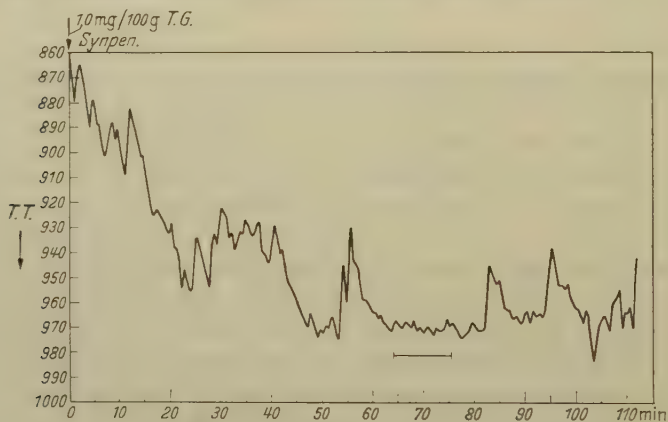


Abb. 1b.

Abb. 1. Antihistaminwirkung auf den Minimalumsatz der Ratte.

a) Ratte 10; Gewicht 115 g; vor *Synpen*. Energieumsatz im steady state 198,3 Cal/kg/24 Std (Ausgangswert).

b) Ratte 10; nach 1,0 mg/100 g *Synpen*. Umsatz im steady state 81,85 Cal/kg/24 Std
Umsatzsenkung 59%.

Nach intramuskulärer Injektion von Neo-Gynergen, im Stadium der Stoffwechselsteigerung nach *Phenergan*, *Soventol-CHP* und *Pyribenzamin*, trat in allen Fällen eine deutliche Senkung der Energieumsätze auf; die Ausgangslage wurde jedoch nicht ganz erreicht (Abb. 2a—c).

Diskussion.

Die mitgeteilten Ergebnisse lassen bei Annahme einer biologischen Streuung der einzelnen Minimalumsätze von $\pm 15\%$ im Hinblick auf die Schwierigkeit, bei Ratten exakte Grundumsatzbedingungen zu erzielen, eine eindeutige Stoffwechselbeeinflussung durch synthetische Antihistamine erkennen. Ganz allgemein steht bei allen Substanzen einer Senkung des Energieumsatzes bei niedriger Dosierung die Erhöhung der Stoffwechsellage nach größeren Dosen gegenüber. Bei Betrachtung der Ergebnisse in dem für alle Antihistamine getesteten Dosisbereich von

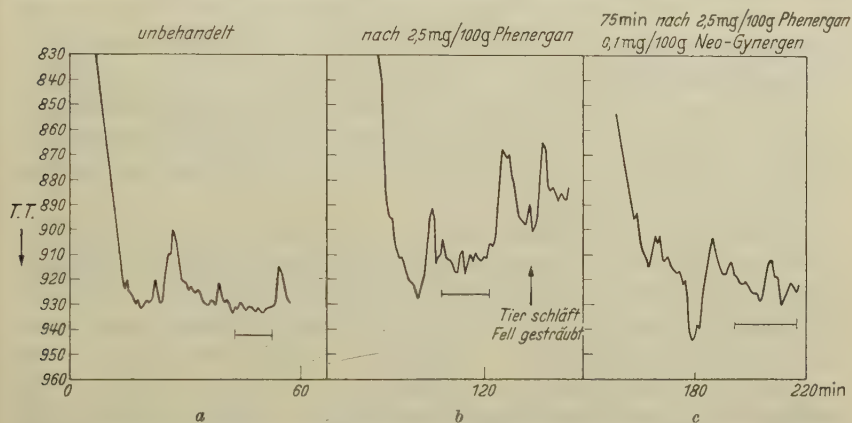


Abb. 2. Neogynergewirkung auf die Umsatzsteigerung nach Antihistaminen. a) Ratte 5; Gewicht 160 g; unbehandelt. Energieumsatz 146,4 Cal. — b) nach 2,5 mg/100 g T. G. Phenergan, Energieumsatz 193,85 Cal. Umsatzzunahme 31%. — c) 0,1 mg/100 g T. G. Neogynergewirkung 75 min. nach Phenergan. Energieumsatz 162,5 Cal. (+ 10%). Umsatzsenkung 21%.

2,5 mg/100 g T.G. überwiegt für die meisten Präparate die Umsatzsteigerung. Hiervon ausgenommen sind die Äthylendiaminderivate Synpen, Antistin und das Phenothyazinyl Multergan, von denen vor allem Synpen in diesem Bereich noch stark hemmende Wirkung aufweist. Phenergan, aus der Reihe der Phenothiazine, deren Wirkung auf den Zellstoffwechsel mehrfach beschrieben ist^{12, 18, 20}, ließ in den vorliegenden Versuchen bei anderer Methodik stoffwechselsenkende Effekte nur in einem Bereich unter 1 mg/100 g T.G. feststellen. Die starke Zunahme der CO_2 -Produktion bei allen im Dosisbereich von 5 mg/100 g T.G. untersuchten Antihistaminen kann als erster Ausdruck einer Stoffwechselsteigerung bei allgemeiner Zunahme der Erregungslage angesehen werden bevor eine motorische Erregung in Erscheinung tritt. Diese Beobachtung kann in Parallele zu klinischen Befunden gesetzt werden, insofern als entsprechend große Mengen der Präparate, die von Kindern versehentlich, von Erwachsenen in suicidalen Absicht eingenommen, zu allen Übergangsstufen von innerer Unruhe, Desorientierung bis zu Erregungszuständen und Exitus letalis unter zentral ausgelösten Krämpfen geführt haben^{1, 9, 36}.

Für die beobachtete Stoffwechselwirkung der Antihistamine bietet sich keine Beziehung zu deren Antagonismus gegenüber den Wirkstoffen des vegetativen Systems (Histamin, Acetylcholin, Adrenalin) soweit Testergebnisse am isolierten Darmstück zum Vergleich herangezogen werden dürfen (vgl. Tab. 2). Gegen eine solche Bindung sprechen auch die in den Vordergrund klinischen Interesses gerückten Beobachtungen mit dem Phenothiazin R. P. 4560* (Megaphen), das starke Wirkungen auf vegetative Funktionen, jedoch kaum noch histaminantagonistische Eigenschaften besitzt^{5, 10, 28}. Im Hinblick auf die chemische Konstitution der getesteten Substanzen läßt sich ihre Stoffwechselwirkung vorerst ebenfalls nicht definieren, da differente Stoffgruppen gleichartige Wirkungen hervorrufen. Wie sich aus den mitgeteilten Befunden ergibt, läßt sich nicht nur durch Phenothiazinabkömmlinge (Phenergan, Multergan), sondern auch durch Äthylendiamine wie Antistin und besonders Synpen eine regelmäßige reproduzierbare anhaltende Umsatzsenkung herbeiführen.

Die Frage, ob die Beeinflussung des Energieumsatzes durch Antihistamine peripher oder zentral bedingt ist, muß noch offen bleiben. Wenn auch im Zusammenhang mit einer permeabilitätsmindernden Wirkung dieser Substanzen^{6, 13, 14} der Zellstoffwechsel sicher unmittelbar beeinflußt werden kann, was u. a. aus einer Hemmung des O₂-Verbrauches von Leberschnitten (Ratte) hervorgeht¹¹, so vermutet die Mehrzahl der Autoren auf Grund ihrer Versuchsergebnisse vorwiegend zentrale Angriffspunkte und als Extrem die „leucotomie médicamenteuse“^{8, 20, 32, 34}. Die beobachtete Wirkung der Präparate bei höherer Dosierung, sowie die früher mitgeteilte Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels⁷, sprechen für einen solchen Mechanismus. Der hemmende Einfluß des Neo-Gynergens im Stadium der Stoffwechselsteigerung nach Antihistaminen — in gewisser Parallele zu seiner Wirkung auf den durch Adrenalin erhöhten Umsatz der Ratte⁴ — scheint auf eine sympathicomimetische Komponente hinzuweisen.

Zusammenfassung.

1. Die Bestimmung von Minimalumsätzen bei Ratten mit Hilfe des Zeißschen Laboratorium-Interferometers läßt erkennen, daß durch synthetische Antihistamine in Abhängigkeit von der Dosierung Stoffwechseländerungen herbeigeführt werden können. Je nach der chemischen Konstitution verhalten sich verschiedene Antihistaminsubstanzen im Dosisbereich von 2,5 mg/100 g T.G. unterschiedlich: nach Verminderung der Dosis weist der Energieumsatz in der Regel eine Abnahme, bei höherer Dosierung eine Zunahme auf.

* N-(3'-Dimethylamino)-propyl-3-Chlorphenothiazin.

2. Die Stoffwechselwirkung der Antihistamine steht nicht in einer erkennbaren Beziehung zu deren Eigenschaften gegenüber den Wirkstoffen des vegetativen Systems und scheint nicht auf eine Gruppe von Substanzen gleichartiger chemischer Konstitution beschränkt; neben Phenothiazinderivaten können auch Äthylendiamine ausgeprägte Stoffwechselsenkungen auslösen. Die Wirkung von Gynergen auf die Stoffwechselsteigerung nach Antihistaminen läßt auf eine sympathicomimetische Komponente hierbei schließen.

Literatur.

- ¹ ABBOT, P. H. u. a.: Brit. Med. J. **1**, 884 (1953). — ² ARNOD, O. H., St. HIFT u. W. SOLMS: Wien. med. Wschr. **1952**, 964. — ³ BAHNER, F.: Pflügers Arch. **250**, 521 (1948). — Z. exper. Med. **47**, 219 (1951). — ⁴ BARGER, G.: in Heffters Hdb. 6. Bd. (Ergänzung) 152 (1938). — ⁵ BÉNITTE, A.: Verh. dtsh. pharmak. Ges., 20. Tg. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **222**, 20 (1953). — ⁶ BENSTZ, W.: Z. exper. Med. **118**, 593 (1952). — ⁷ BENSTZ, W.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 59. Tg. 1953. — ⁸ CHAUCHARD, B., u. P. CHAUCHARD: C. r. Soc. Biol. Paris **146**, 1869 (1952). — ⁹ CHURCHILL, J. M., u. G. O. GAMMON: J. Amer. Med. Assoc. **141**, 18 (1949). — ¹⁰ COURVOISIER, S.: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 305 (1953). — ¹¹ CRAVER, B. N. u. a.: Ann. Allergy **9**, 34 (1951). — ¹² DUCROT, R., u. Ph. DÉCOURT: C. r. Soc. Biol. Paris 8. Juli 1950. — ¹³ FLECKENSTEIN, A., u. A. HARDT: Klin. Wschr. **1949**, 360. — ¹⁴ FLECKENSTEIN, A. u. a.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **214**, 38 (1952). — ¹⁵ HAAS, H.: Histamine und Antihistamine. Aulendorf 1951. — ¹⁶ HAAS, H.: Histamine und Antihistamine II. Aulendorf 1952. — ¹⁷ HAAS, H.: Arzneimittelforschung **3**, 328 (1953). — ¹⁸ HALPERN, B. N., u. J. HAMBURGER: Canad. Med. Assoc. J. **59**, 322 (1948). — ¹⁹ HALPERN, B. N.: In Congrès Int. Thérap. Brüssel 1949, p. 247. — ²⁰ HEINRICH, M. A.: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 444 (1953). — ²¹ JAUMES, Ch., H. LABORIT u. a.: Académie des Sciences **234**, 372 (1952). — ²² JENTZER, A.: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1215. — ²³ IRMER, W., u. F. H. KOSS: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 361. — ²⁴ KINDER, W.: Zeiss-Nachrichten 3. Folge, Heft 6 u. 7 (1940). — ²⁵ LABORIT, H.: Acta Anaesth. Belgica **2**, 710 (1951). — ²⁶ LABORIT, H.: Presse méd. **1952**, 140. — ²⁷ LABORIT, H., P. HUGUENARD u. R. ALLUAUME: Presse méd. **1952**, 206. — ²⁸ LABORIT, H.: Verh. dtsh. pharmakol. Ges., 20. Tg., Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **222**, 41 (1953). — ²⁹ LACOMME, M. u. a.: Gynéc. et Obstétr. **4**, 558 (1952). — ³⁰ MEYER, H. H.: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 1097. — ³¹ NOTHDURFT, H., u. J. HOPP: Pflügers Arch. **242**, 97 (1939). — ³² PACKMANN, E. W. u. a.: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **5**, 311 (1953). — ³³ RATSCHOW, M.: Medizinische (Stuttgart) **42**, 1351 (1953). — ³⁴ WINTER, A. Ch., u. L. FLATAKER: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **101**, 156 (1951). — ³⁵ WOLLSCHITT, H., W. BOTHE u. a.: Archiv exper. Path. u. Pharmacol. **177**, 635 (1935). — ³⁶ WYNGAARDEN, J. B., u. M. H. SEEVERS: J. Amer. Med. Assoc. **145**, 277 (1951).

Dr. WOLFGANG BENSTZ, Heidelberg, Zähringer Straße 19.

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin-West.

3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäure als Röntgenkontrastmittel.

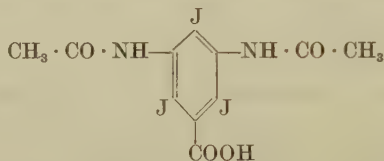
Von

H. LANGECKER, A. HARWART und K. JUNKMANN.

(Eingegangen am 18. März 1954.)

In Fortsetzung unserer Untersuchungen über 2,4,6-Trijod-3-amino-benzoesäure-Abkömmlinge als Kontrastmittel werden nachstehend unsere Erfahrungen über 3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäure als Nierenkontrastmittel wiedergegeben.

3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäure* ($C_{11}H_9O_4N_2J_3$) (I)



62,1% Jod, Mol-Gew. 613,8 bildet farblose, geruchlose, geschmacklose Kristalle, F.P.: von 260° an Verfärbung und Zersetzung unter Jodabspaltung. Bei 25° löst Wasser von der freien Säure 100 mg%, bei 50° 150 mg%, bei 90° 270 mg%. Bei 25° löst Äthylalkohol 700 mg%, bei 50° 880 mg%; bei 25° löst Methanol 2,4%, bei 50° 2,42% (g/Vol). In Benzol, Chloroform und Äther ist I unlöslich.

Das Natriumsalz, $C_{11}H_8O_4H_2J_3Na$, 59,9% Jod, Mol-Gew. 635,8 bildet farblose geruchlose, schwach salzig schmeckende rhombische Nadeln. F.P.: 261—262, Zersetzung unter Jodabspaltung. Bei 20° lösen sich 60 g ad 100 cm³ Wasser.

3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäure-Methylglucamin, 47% Jod, Mol-Gew.: 808,8 bildet farblose, geruchlose, schwach süßlich schmeckende, rhombische Nadeln. F.P.: 189—193° unter Zersetzung. Bei 20° lösen sich 89 g ad 100 cm³ Wasser.

Die freie Säure kann bis zu 2 Mol Kristallwasser enthalten. Die physikalischen Konstanten*: $p_K = 3,4$, ρ (Dichte) 25° = 2,25 (Na-salz), Äquivalenz- p_H -Wert = 7,3 (Na-salz), 6,0 (Methylglucamin-Salz). UV-Spektrum = $\lambda = 238 m\mu$, $\epsilon = 32000$.

Alle wäßrigen Lösungen des Na-salzes zeigen die Erscheinung der dynamischen Oberflächenspannungserniedrigung bis zu 25%. Bezüglich der anderen Konstanten siehe Tab. I.

* Die hier beschriebenen Substanzen wurden von Herrn Dr. P. DIEDRICH im Hauptlaboratorium der Schering A.G. hergestellt.

** Nach Untersuchungen von Herrn RÖPKE, Laboratorium für Chem. Physik des Hauptlaboratoriums.

Für den Nachweis in Harn und Galle wurde die in der I. Mitteilung (3) beschriebene Methode benutzt. Im Blut, Plasma und Ultra-Filtrat war die Enteiweißung mit Zinkhydroxyd offenbar wegen starker Adsorption nicht anwendbar. Es wurde daher unter Beachtung eines eventuellen Leerwertes im Nickeltiegel verascht. Die von

Tabelle 1.

C'	C	ϱ 25°	$n_D^{25^\circ}$	— ΔT
0,0	0,0	0,997	1,3315	—
0,95	0,013	—	—	—
2,84	0,045	—	—	—
4,74	0,074	1,025	1,338	0,27
9,47	0,149	1,055	1,345	0,52
14,20	0,223	1,085	1,353	0,78
18,90	0,298	1,115	1,361	1,07
23,70	0,372	1,145	1,368	1,37
28,40	0,446	1,175	1,376	1,70
33,10	0,521	1,205	1,384	2,02
37,90	0,595	1,235	1,392	2,38
42,60	0,669	1,265	1,399	2,80
47,40	0,744	1,295	1,407	3,2

Bemerkungen: Die Werte beziehen sich auf die wäßrigen Lösungen des Nalzes. — C' = g/100 cm³ Lösung, C = Mol/l Lösung, ϱ = g/cm³, n_D = Brechungs-
zahl, — ΔT = Gefrierpunkterniedrigung.

NEUHAUS für 2,4,6-Trijod-3-acetylamino-benzoesäure angegebene Bestimmung (Diazotierung nach salzsaurer Hydrolyse und Kupplung mit N-(1-naphthyl)-äthylen-diamin) läßt sich auch in reinen Lösungen und im Harn für I durchführen, ist aber für die Prüfung des Ultra-Filtrates wegen der hohen Leerwerte unbrauchbar. Bei der Salzsäurehydrolyse wird ein Teil des Jods abgespalten.

Resorption. I wird nach peroraler Verabreichung bei der Ratte schlecht, nach subcutaner Gabe gut resorbiert (Tab. 4).

Die Verteilung von I wurde in vitro an den Phasen des Blutes und am nierenlosen Hund untersucht. (Vgl. I. Mitteilung (3) und Tab. 2 und 3.) Aus den Tabellen ergibt sich, daß I nur mäßig an das Plasmaeiweiß und kaum an die Erythrocyten adsorbiert wird. Die Verteilung im Körper erfolgt rasch und erreicht in 50 min ein Verteilungsvolumen von 39,3% des Körpergewichtes.

Die Ausscheidung durch Harn und Galle wird in Tab. 4 wieder-
gegeben.

Aus den Ausscheidungsprotokollen ergibt sich eine gute Harnfähigkeit von I. Beim Menschen werden 1 Std nach intravenöser Verabreichung von 10 g im Blasen-harn Konzentrationen von 1,5—5,9% Jod erreicht. In der 3. Std war ein gewisser diuretischer Effekt nachweisbar. Da die diazotierte 3,5-Diamino-2,4,6-trijodbenzoesäure weder unter sauren noch alkalischen Kupplungsbedingungen Farbstoff bildet, kann die Frage der

Acylabspaltung im Stoffwechsel mit dieser Methode nicht beantwortet werden. Eine Jodabspaltung ist bei den untersuchten Laboratoriumstieren niemals festgestellt worden. Aus menschlichem Harn war die

Tabelle 2.

Die Verteilung von I in vitro auf die Phasen des Menschen- und Hundebutes.

Hund	mg% Blut	Prozent der Gesamtmenge			Mensch	mg% Blut	Prozent der Gesamtmenge		
		Erythrocyten	Plasma-eiweiß	Ultra-Filtrat			Erythrocyten	Plasma-eiweiß	Ultra-Filtrat
I	7,2	9,07	21,4	69,5	I	6,5	10,8	31,8	57,5
	10,7	12,1	17,8	70,0		11,1	9,9	28,6	61,5
	14,6	13,7	16,4	70,0		14,2	16,2	25,7	58,1
	21,5	4,65	25,0	70,3		21,8	15,1	26,2	58,8
	27,2	3,68	27,6	68,8		28,0	12,8	26,4	60,7
	43,0	10,7	22,8	66,5		42,0	11,9	24,8	63,4
II	6,6	12,1	15,9	72,0	II	6,6	7,6	36,0	56,5
	10,4	9,1	18,3	73,0		11,3	—	33,8	76,0
	12,4	6,45	19,0	74,6		13,2	6,0	35,6	59,0
	19,0	—	28,4	76,2		18,0	—	35,0	80,0
	22,5	—	30,0	75,0		27,2	9,2	30,0	60,5
	39,0	3,8	25,0	71,6		41,5	10,8	26,3	63,0
III	7,0	17,0	15,0	67,8					
	10,1	12,8	17,7	69,0					
	11,8	1,7	27,5	70,8					
	19,0	—	36,8	75,0					
	22,4	—	38,0	73,7					
	39,0	5,6	23,0	71,6					

Tabelle 3.

Die Verteilung von I beim nierenlosen Hund nach i.v. Verabreichung von 100 mg/kg.

	mg% ($m \pm s$), in Klammer die Zahl der Versuche			
	20 min	50 min	120 min	240 min
Blut*	24,3	22,2	18,7	19,2
Plasma	$37,5 \pm 2,61(5)$	$34,2 \pm 2,40(6)$	$28,7 \pm 1,42(6)$	$29,6 \pm 3,85(2)$
Ultra-Filtrat	$32,5 \pm 1,17(6)$	$27,2 \pm 0,82(6)$	$23,7 \pm 0,63(7)$	$23,2 \pm 2,24(3)$
Liquor			< 0,84	< 0,84
Kammerwasser			< 4,2	< 4,2
Perikard			$26,0 \pm 3,59(2)$	29,4 (1)
Verteilungsvolumen %				
Körpergewicht		39,3		

* Die Blutwerte sind errechnet aus dem Ultra-Filtrat nach der in vitro-Verteilung.

Verbindung durch Ausfällen mit Schwefelsäure und neuerliches Umfällen so rein zu gewinnen, daß sie im Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit der Ausgangssubstanz übereinstimmte. Das Äquivalentgewicht betrug 578 (Soll = 614), der Jodgehalt 60,3% (Soll = 62,1%).

Tabelle 4.

Versuchsobjekt	Verabr. Art	Dosis g/kg	Zeit n. Injekt.	% der Eingabe in		
				Harn		Galle
Ratte	i.v.	1,0	3 Std	80,5		—
Ratte	i.v.	1,0	4 Std	100,0		—
Ratte	set.	1,0	1 Std	8,35		—
			2 Std	41,45		—
			4 Std	50,13		—
			8 Std	58,18		—
			24 Std	66,6		—
Ratte	per os	1,0	3 Std	0,7		—
			6 Std	2,1		—
			22 Std	5,2		—
Kaninchen . . .	i.v.	1,0	10 min	12,2		—
			20 min	17,6		—
			30 min	32,6		—
			45 min	42,1		—
			1 Std	52,7		—
			1,5 Std	60,6		—
			2 Std	—	64,6	73,0
			3 Std	—	70,3	—
			4 Std	—	78,3	—
			6 Std	—	—	91,0
Mensch	i.v.	0,16	1 Std	27,5	35,9	17,5
			2 Std	39,3	43,9	27,1
			4 Std	53,6	59,5	43,5
			8 Std	62,8	71,8	51,2
			24 Std	65,2	77,1	54,3

Zur Klarstellung des Ausscheidungsmechanismus in der Niere wurde die Clearance von Inulin und I bei gleichzeitiger intravenöser Infusion am nicht narkotisierten Hund bestimmt. (Vgl. Methodik bei KUSCHINSKY und LANGECKER.) Die Inulinbestimmung erfolgte nach LITTLE. Die Jodbestimmung ist nach Oxydation mit Kaliumpermanganat in Anwesenheit von Inulin durchführbar, allerdings muß die Permanganatmenge erhöht werden. Der Clearance-Berechnung wurde von Inulin und I die Plasma-Ultra-Filtratkonzentration zugrunde gelegt.

Aus Tab. 5 ersieht man, daß nur bei niedrigen Blutspiegeln von I mg% etwa die Clearance von I größer ist als die von Inulin, so daß man für

diesen Bereich annehmen muß, daß I wenigstens teilweise sezerniert wird, während bei der Anwendung als Kontrastmittel beim Menschen in Dosen von 10 g die Hauptmenge durch Filtration ausgeschieden wird.

Lokale Verträglichkeit: Von Ratte, Hund und Kaninchen wurden intramuskulär 0,1 bzw. 0,5 cm³ 40% ige Lösung des Natriumsalzes und der Methylglucaminverbindung vertragen. Am Kaninchenohr bzw. an der Meerschweinchenbauchhaut wurde die intracutane Injektion von 0,1 cm³ der gleichen Lösungen reizlos vertragen. Ein Tropfen davon blieb

Tabelle 5.

Plasma-Ultra-Filtrat-Clearance von I am nicht narkotisierten Hund
(Infusion: 2,5% Inulin, 0,5% I, 0,5 cm³ je Minute).

Hund kg	Sammelperiode min	Harn cm ³ /min	Ultra-Filtrat mg% I Halbzeit	Ultra-Filtrat-Clearance		Verhältnis: Clearance I Clearance Inulin
				Inulin	I	
16,2	30— 90	0,54	—	103	—	
	90—150	1,09	4,0	90	102	1,13
	150—210	0,94	2,14	155	108	0,7
9,8	30— 90	0,33	1,73	73	60	0,82
	90—150	0,24	1,73	77	64	0,83
	150—210	0,13	1,73	60	63	0,95
17,8	30— 90	0,42	0,925	81	123	1,52
	90—150	1,21	1,17	94	103	1,1
	150—210	0,54	1,09	101	121	1,2
15,2	30— 90	1,62	1,29	76	118	1,55
	90—150	1,26	0,92	74	135	1,82
	150—210	0,38	1,4	77	85	1,1

am Kaninchenauge ohne lokale Reizwirkung. Eine 2,5% ige Lösung des Natriumsalzes (in physiologischem Kochsalz) macht an Kaninchen-Erythrocyten innerhalb 24 Std keine Hämolyse und verändert die osmotische Resistenz nicht.

Allgemeine Verträglichkeit: Ratte g/kg in 5 min intravenös Natrium-salz und als Methylglucaminverbindung LD 50 14,7 (12 Tiere, Faktor 1,4, auf Säure berechnet).

Vergleichsweise sind in der Tab. 6 die Toxizitäten sowie deren Relation zum Äquivalentgewicht anderer als Nierenkontrastmittel benutzter Verbindungen angegeben.

Wie von klinischer Seite (FREI) festgestellt wurde, ist I bei intravenöser Injektion in hochkonzentrierten Lösungen lokal ausgezeichnet verträglich. Es treten die z. B. mit 3,5-Dijod-4-pyridoxyl-N-methyl-2,6-dicarbon-säure gelegentlich beobachteten und den Kranken recht lästigen Venen-schmerzen mit I nicht auf. Beim Kaninchen wurden 4 g/kg intravenös

(40%ige Lösung in 14 min injiziert) reaktionslos vertragen. Der Hund vertrug 1 g/kg rasch injiziert und 2 g/kg bei 20 min Injektionsdauer reaktionslos. Ein Hund zeigte nach 3,6 g/kg, in 28 min injiziert, Erbrechen.

Die histologische Untersuchung von 3 Ratten, die 8 g/kg rasch intravenös injiziert erhielten, ergab nach 15 min bei einem Tier eine normale Leber, ein Tier zeigte vakuolisierte Parenchymzellen, bei einem Tier waren die Zellen fein granuliert bei gleichmäßiger Kernfärbung und etwas verwischter Leberzeichnung. In der Niere waren beim ersten Tier

Tabelle 6.

Die Toxizität von Nierenkontrastmitteln für die Ratte nach i.v. Verabreichung.

Untersuchte Substanz	LD 50/kg*	
	g (Säure)	g (Äquiv.)
Natriumjodid	1,06	0,0082
Morpholin- u. Diäthanolamin.-3,5-dijod-4-pyridon- N-Essigsäure (Ampullen 30%)	2,7	0,0066
Diäthanolamin. 3, 5-dijodpyridon-(4)- essigsäure (Ampullen 50%)	5,4	0,0133
3,5-Dijod-4-pyridoxyl-N-essigsäures-Na.	5,6	0,0138
3,5-Dijod-4-pyridon-N-essigsäures Methylglukamin (Ampullen 80%)	5,9	0,0145
o-Jodhippursäures Natrium	5,0	0,0163
5-Jod-2-pyridoxyl-N-essigsäures Natrium	7,0	0,0240
3,5-Dijod-4-pyridoxyl-N-methyl-2,6- dicarbonsäures Natrium	9,0	0,0200
2,4,6-Trijod-3-acetaminobenzoesäures Natrium	11,6	0,0208
3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäures Natrium	14,7	0,0241
3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijodbenzoesäures Methylglucamin	14,7	0,0241

* Die Zahlen beziehen sich auf das Anion der Verbindungen.

etwas vakuolisierte Tubulus-Epithelien bei guter Kernfärbung zu sehen. Die Glomerulus-Epithelien waren leicht vakuolisiert. Die BOWMANsche Kapsel und die Glomerulus-Capillaren waren etwas erweitert. Beim zweiten und dritten Tier waren die Glomerulus-Capillaren erweitert, das Epithel der gewundenen Kanälchen bei mäßig guter Kernfärbung vakuolisiert.

Pharmakologische Wirkungen: An der Katze in Pernocton-Narkose trat nach 250 mg/kg eine geringfügige Blutdrucksenkung auf. 0,5—1 g pro Kilogramm senkten den Blutdruck für 1 min um 40 mm Hg, die Atmung blieb unbeeinflusst. Nach 2 g pro Kilogramm sank der Blutdruck für 6 min um 80 mm ab. Am Straubherzen wurde in Konzentrationen von

10^{-5} bis 10^{-2} die Herzaktion nicht beeinflußt. Am Kaninchen- und Meerschweinchendünndarm waren Konzentrationen bis 10^{-2} ohne Einfluß. Der durch Barium am Meerschweinchendünndarm ausgelöste Spasmus konnte durch I nicht beeinflußt werden, und der durch Acetylcholin ausgelöste Spasmus zeigte erst in Konzentrationen von 10^{-2} Beeinträchtigung. Am Meerschweinchen- und Kaninchenuterus war in Konzentrationen bis 10^{-2} keine Eigenwirkung zu sehen. Bei dieser Konzentration wurde die Eigenrhythmik des Kaninchenuterus etwas abgeschwächt. Am isolierten Kaninchenohr ließ sich bei Konzentrationen bis zu 10^{-2} keine Gefäßwirkung nachweisen. Das Methylglucaminsalz zeigte dieselben pharmakologischen Wirkungen.

Zusammenfassung.

Die 3,5-Diacetyl-2,4,6-trijodbenzoesäure (I) ist sowohl in Form ihres Na-salzes, wie insbesondere in der des Methylglucaminsalzes, eine praktisch ungiftige Verbindung. Peroral wird sie kaum, parenteral aber gut resorbiert. Sie verteilt sich nach intravenöser Injektion rasch im Körper und erreicht ein Verteilungsvolumen von 39% Körpergewicht. I wird nur mäßig an das Plasmaeiweiß und kaum an Erythrocyten adsorbiert, im Stoffwechsel kaum verändert und vorwiegend auf dem Wege der Filtration durch die Niere ausgeschieden. I empfiehlt sich als gut verträgliches Nierenkontrastmittel.

Literatur.

- ¹ FREI, A.: Vortrag auf d. Kongr. d. Rhein.-Westfäl. Röntgen-Ges. Essen (1954). — ² KUSCHINSKY, G., u. H. LANGECKER: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **204**, 699 (1947). — ³ LANGECKER, H., K. JUNKMANN u. A. HARWART: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **220**, 195 (1953). — ⁴ LANGECKER, H.: Biochem. Z. **324**, 214 (1953). — ⁵ LITTLE, M. J.: J. of Biol. Chem. **180**, 747 (1949). — ⁶ NEUHAUS, D. R., A. A. CHRISTMAN, H. B. LEWIS and A. ARBOR: J. Labor. a. Clin. Med. **35**, 43 (1950).

Prof. Dr. HEDWIG LANGECKER, Hauptlaboratorium der Schering A.G.,
Berlin-West, Müllerstraße 170—172.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN).

Gegenüberstellung von blockierenden und deblockierenden Substanzen am Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte.

II. Mitteilung.

Von

W. RUMMEL und R. SCHULZ.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. März 1954.)

Durch Blockierung der Endplatte mit depolarisierenden Stoffen ließ sich indirekt nachweisen, daß Adrenalin durch seine repolarisierenden Eigenschaften die neuromuskuläre Überleitung wiederherstellt. Adrenalin sollte demnach bei einer systematischen Gegenüberstellung mit

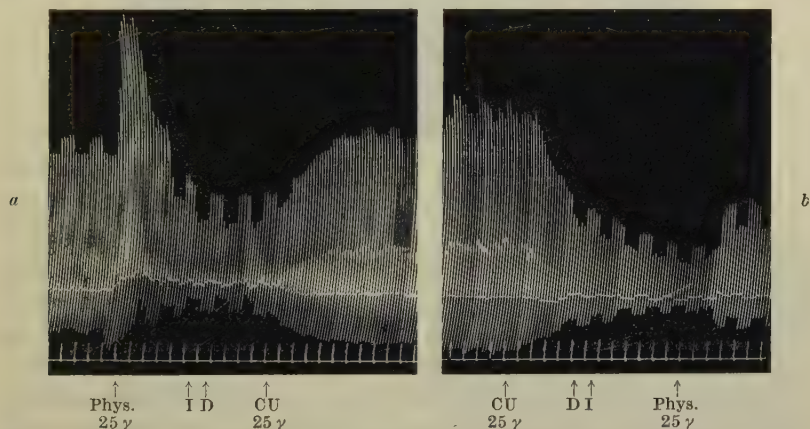


Abb. 1a und b. Phys. Physostigmin, CU d-Tubocurarin, Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 1,5 msec; Impulsstärke 25 mAmp (25 V). Wechsel direkt indirekt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

Depolarisatoren zusammen mit Curare und Calcium eine Gruppe bilden. In den Untersuchungen, über die hier berichtet wird, sollte die Richtigkeit dieser Annahme geprüft werden.

Methode.

(Siehe I. Mitteilung.) Zahl der Versuche beträgt 120.

Ergebnisse.

Eine Physostigminlähmung (100 γ %) wird durch Curare (100 γ %) aufgehoben. Abb. 1a gibt einen typischen Versuch wieder. Initial kommt es bei Physostigmin oft wie auch bei anderen depolarisierenden Stoffen, z. B. bei Kalium und Äthanol, zu einer beträchtlichen Steigerung der

Zuckungshöhe, ehe die Lähmung einsetzt. Vor der Einstellung eines Verteilungsgleichgewichtes tritt bei solchen nicht übermäßig stark lähmenden Konzentrationen jene steigernde Wirkung vorübergehend zutage, die bei niederen Konzentrationen alleine ohne darauffolgende Lähmung beobachtet wird. Am Tiefpunkt der rund 50% Lähmung hat sich das Verhältnis der Zuckungshöhen zugunsten der direkten verschoben. Nach Curare nimmt die indirekte Zuckung entsprechend steiler zu. Beide überschreiten als Ausdruck eines nicht völlig ausgeglichenen Konzentrationsverhältnisses ihre Ausgangshöhe. Abb. 1 b stellt die nachfolgende *Umkehrung* dar. Die schwache deblockierende Wirkung des Physostigmin zeigt, daß ein auch quantitativ ideales reziprokes Verhalten sich nicht leicht darstellen

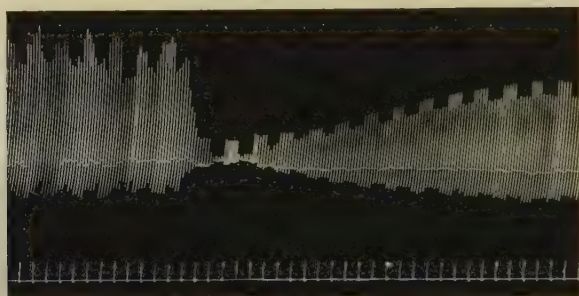


Abb. 2. Phys. Physostigmin, Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 0,5 msec; Impulsstärke 29 mAmp (25 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

läßt. Es macht naturgemäß Schwierigkeiten, das Konzentrationsverhältnis abzustimmen, wahrscheinlich wegen der unterschiedlichen Haftfähigkeit der Substanzen, die sich bei mehrmaliger Wiederholung bisweilen bemerkbar macht. Trotzdem sieht man bei einer genügenden Anzahl von Versuchen Fälle, die auch quantitativ der Erwartung entsprechend ausfallen.

Mit *Calcium* (70—140 mg%) kann eine Physostigminlähmung ebenfalls beseitigt werden, wie Abb. 2 zeigt. Hier ist der Block so stark ausgebildet, daß praktisch nur noch die direkte Zuckung übrig bleibt. Trotzdem gelingt es, die indirekte Zuckung anfangs in rascherem Anstieg und danach im gleichen Tempo mit der direkten Zuckung zu restituieren. Die Ausgangshöhe wird nahezu wieder erreicht. Calcium unterscheidet sich von den anderen Stoffen mit gleich gerichtetem Effekt dadurch, daß der Anstieg in der Regel sehr viel langsamer erfolgt. Eine Ausnahme macht die Kaliumlähmung. (Wenn man in einem Versuch, bei dem es wie in Abb. 2 praktisch zu einer totalen Lähmung der indirekten Zuckung gekommen ist, die Dauer des Einzelimpulses nachträglich verlängert, dann läßt sich leicht die direkte Zuckung mehr herausheben und so der Block noch verdeutlichen.)

Alles, was hier an Hand der Physostigminlähmung festgestellt wurde, gilt auch für die Prostigminlähmung. In Abb. 3 wurde deshalb als Beispiel einmal ein Prostigminversuch herausgegriffen. Man sieht hier, daß auch *Chinidin* (400—800 γ %) antagonistisch wirkt. Die bevorzugte

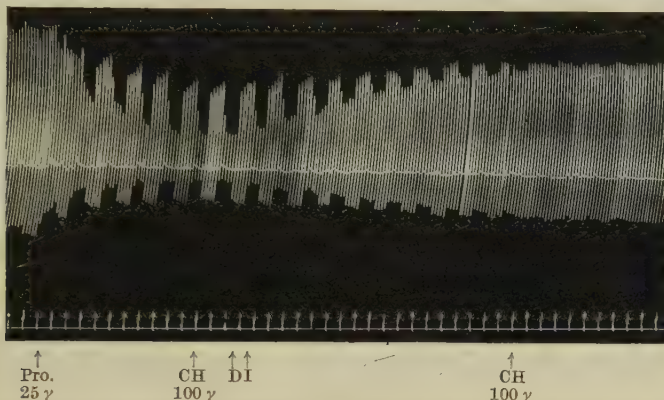


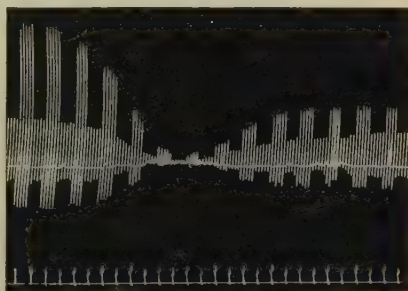
Abb. 3. Pro. Prostigmin, Ch Chinidin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 1,6 msec; Impulsstärke 29 mAmp (29 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

Wiederherstellung der indirekten Zuckung kommt in diesem Beispiel sehr klar heraus. Die Succinylcholinlähmung (200 γ %) ließ sich ebenfalls mit Chinidin aufheben, die Decamethonium- (1 mg%) und Nicotinlähmung (2 mg%) nicht. Curare und Calcium dagegen wirkten in allen 3 Fällen genau wie bei der Physostigmin- bzw. Prostigminlähmung deblockierend.

Zwischen Decamethonium und Curare besteht wie zwischen Curare und Physostigmin bzw. Prostigmin ein reziproker Antagonismus. Für Alkohol und Curare wurde er in einer anderen Untersuchung festgestellt⁹. Für Succinylcholin und Curare dagegen konnten wir ihn nicht nachweisen. Auch bei Nicotin läßt sich nur zeigen, daß Curare (40 γ %)

die Lähmung aufhebt (Abb. 4). Das Umgekehrte, die Aufhebung einer Curarelähmung mit Nicotin, ist uns auch hier nicht gelungen.

Coffein (4—8 mg%) erweist sich als Antagonist nicht nur gegenüber Physostigmin (Abb. 5), Succinylcholin, Decamethonium und Nicotin, sondern auch gegen Curare (Abb. 6). Darin unterscheidet es sich von



Nic. $\uparrow$ 500 γ CU $\uparrow$ 10 γ I $\uparrow$ $\uparrow$ D
Abb. 4. Nic Nicotin, CU d-Tubocurarin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 2 msec; Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

Adrenalin und Chinidin und gleicht dem Calcium, das gegen die Stoffe der Physostigmingruppe *und* gegen Curare wirkt, wenngleich diese Anti-

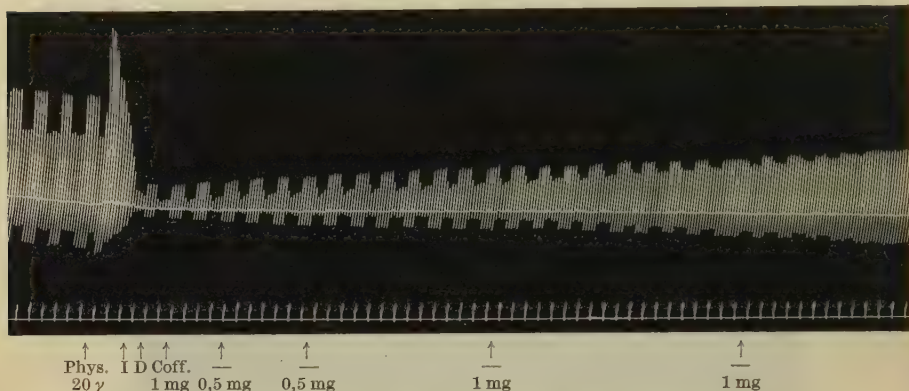


Abb. 5. Phys. Physostigmin, Coff. Coffein. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 1,75 msec. Impulsstärke 29 mAmp (29 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

Tabelle 1.

	Curare	Adrenalin	Calcium*	Chinidin	Coffein*
Physostigmin, Prostigmin .	↔	←	←	←	←
Succinylcholin	←	←	←	←	←
Decamethonium	↔	←	←	∅	←
Nicotin	←	←	←	∅	←
Kalium	→	←	←	∅	∅
Alkohol	↔	(←)	←		
Ca-frei	∅	(←)	←	∅	∅

In der Senkrechten stehen die Stoffe, mit denen Lähmungen erzeugt wurden, in der Waagerechten diejenigen, die als Antagonisten geprüft wurden.

← = einseitiger Antagonismus, ↔ = reziproker Antagonismus, (←) = Einzelbeobachtungen, ∅ = keine Wirkung, * = Coffein und Calcium waren auch der Curarelähmung gegenüber antagonistisch wirksam.

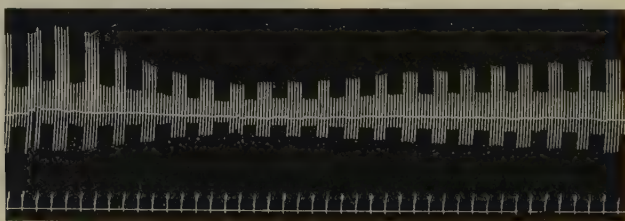


Abb. 6. CU d-Tubocurarin, Coff. Coffein. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 1,75 msec; Impulsstärke 29 mAmp (29 V). Wechsel indirekt/direkt alle 30 sec. I indirekter Reiz; D direkter Reiz.

curarewirkung sehr geringgradig war und sich in unseren Versuchen nicht regelmäßig darstellen ließ.

Abb. 7a und b geben einen interessanten Nebenbefund wieder, der sich in verschiedenen Versuchen (7 mal) in ganz ähnlicher Weise wiederholte. Es handelt sich um die 4mal nach Calcium und 3mal nach Chinidin beobachtete *Abnahme* der *direkten* Zuckung nach vorübergehendem

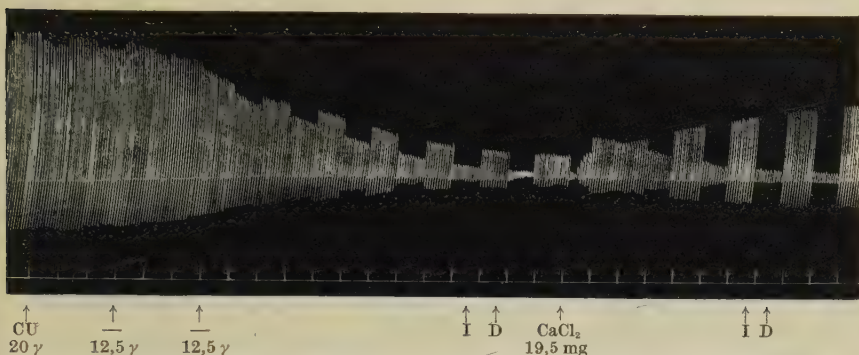


Abb. 7a. CU d-Tubocurarin. Impulsfolge 11/min; Impulsdauer 4 msec. Impulsstärke 15 mAmp (15 V).

Anstieg von direkter und indirekter Zuckung, so daß die indirekte Zuckung isoliert übrig blieb (Abb. 7a). Bei Chinidin wurde die Erscheinung beobachtet in Versuchen, in denen vorher keine anderen Substanzen gegeben worden waren. Mit steigender Konzentration nahm die direkte

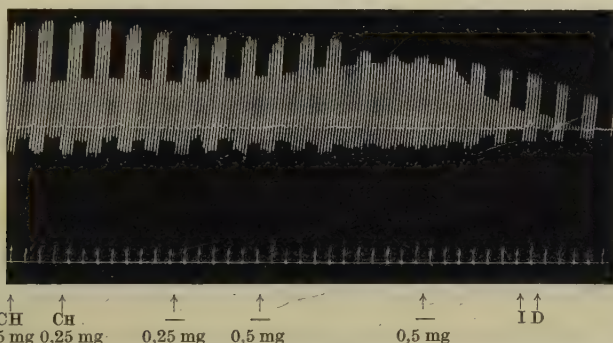


Abb. 7b. CH Chinidin. Impulsfolge 10/min; Impulsdauer 3 msec; Impulsstärke 29 mAmp (29 V).

Zuckung zunächst zu, ehe sie dann stärker als die indirekte absank, so daß zum Schluß nur noch die indirekte Zuckung restierte (Abb. 7b). Bei den Versuchen mit Calcium ging eine Kalium- oder Curarelähmung voraus, gegen die Calcium gegeben wurde.

Diskussion.

Wenn man die Tabelle als Resultat der Untersuchungen betrachtet, dann sieht man, wie sich nach ihrem entgegengesetzten Wirkungsmechanismus entsprechend der theoretischen Erwartung die *repolarisierenden*

Stoffe als *Antagonisten* den depolarisierenden Substanzen gegenüber gruppieren. Coffein und Calcium erweisen sich im Gegensatz zu Adrenalin und Chinidin auch gegen Curare, einem Stoff ihrer eigenen Gruppe, als wirksam.

Die Tatsache überrascht, da sie der Theorie entgegensteht. Für Calcium läßt sich die scheinbare Widersprüchlichkeit leicht erklären. Vom Calcium ist neben der hyperpolarisierenden Wirkung, die für die hier angewandten Konzentrationen an der Einzelfaser des Rattenzwerchfells festgestellt wurde³, noch eine zweite bekannt, nämlich ein begünstigender Einfluß auf die Acetylcholinfreisetzung an der Endplatte¹. Wahrscheinlich ist sie für die Anticurarewirkung verantwortlich.

Beim Coffein sind unsere augenblicklichen Kenntnisse zu gering, um es berechtigt in Analogie zu setzen. Wir wissen lediglich, daß es, direkt auf die Endplatte gegeben, eine tetanische Kontraktion verursacht, die sich durch Curare wieder beseitigen läßt⁴.

In Gegenüberstellung mit Substanzen, deren besondere Endplattenwirksamkeit bekannt ist, zeigt sich, daß es Bedingungen gibt, unter denen auch Stoffe ohne spezifisch auf die Endplatte gerichtete Wirkung dort einen Effekt erzielen. Adrenalin, Calcium, Chinidin und Coffein sind derartige Substanzen. Sie können auch die direkte Zuckung allein beeinflussen und beweisen damit, daß sie gleichzeitig unmittelbar an der Faser angreifen. Das ist bekannt. Wenn nun aber eine Situation herbeigeführt wird, in der durch Depolarisation praktisch nur die Endplatte gelähmt ist, dann kann auch die Endplattenwirksamkeit eines Stoffes sichtbar werden, der gleichermaßen auf Faser und Endplatte einwirkt.

Weshalb es nicht möglich war, in jedem Falle zwischen den Substanzen der Physostigmingruppe unserer Tabelle und Curare ein reziprokes Verhalten zur Darstellung zu bringen, mag wohl zum Teil daran liegen, daß es rein technisch schwierig ist, das richtig abgestimmte Konzentrationsverhältnis zu treffen. RICKER, in dessen Übersichtsartikel⁸ alle bisher bekannten Fälle eines reziproken Antagonismus gesammelt sind, hat schon einmal darauf hingewiesen. Aber sicher sind es nicht immer nur technische Schwierigkeiten. Bei Kalium wird das offenkundig. Es gelingt wohl eine Curarelähmung mit Kalium abzuschwächen, aber nicht umgekehrt. Man kann sich diese Tatsache dadurch erklären, daß hier ein rein endplattenwirksamer Stoff einem gegenübersteht, der gleichermaßen auf die Faser wirkt. Das gleichzeitig auf Faser und Endplatte wirkende Kalium kann deshalb in Konzentrationen, in denen es selbst noch nicht lähmt, die blockierende Wirkung des nur endplattenwirksamen Curare beeinflussen. Das Umgekehrte ist hingegen nicht möglich, weil bei lähmenden Kaliumkonzentrationen auch bereits die Fasern gelähmt sind, und dort richtet Curare nichts aus.

Die merkwürdige Nebenbeobachtung, daß Calcium und Chinidin zu einer nahezu völligen Reduktion der direkten Zuckung bei erhaltener indirekten Zuckung führen, kann man auch nur zu deuten versuchen, wenn man die Wirkungen auf Faser und Endplatte getrennt betrachtet. Calcium in hohen Konzentrationen z. B. könnte einerseits die Faser hyperpolarisiert haben, so daß die Schwelle der meisten Fasern angestiegen ist und der bisherige direkte Reiz nur schwach oder gar nicht mehr wirkt. Andererseits begünstigt es die Acetylcholinfreisetzung an der Endplatte, so daß, wie im abgebildeten Beispiel zu sehen, die durch Curare praktisch ausgeschaltete indirekte Zuckung gleichzeitig wieder ansteigt.

Zum Schluß sei noch auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die auftreten müssen, wenn man bei deblockierenden Substanzen nur die Eigenschaften berücksichtigt, die entweder wie bei Calcium die Acetylcholinfreisetzung begünstigen oder wie bei Chinidin die Aktivität der Cholinesterase stark hemmen^{7, 10}. Durch diese Eigenschaften kann z. B. ein Physostigmin- oder Prostigmin-Block nicht aufgehoben werden. Dafür kann nur der beiden Substanzen ebenfalls eigene repolarisierende Charakter verantwortlich sein. Für Adrenalin⁵, Calcium³, Chinidin⁶, Coffein⁶ und Curare² ist eine polarisierende Membranwirkung gemessen worden. Chinidin versagte in unseren Versuchen gegenüber Decamethonium, Nicotin und Kalium, doch läßt sich Endgültiges darüber nicht sagen, da in diesen drei Fällen die Zahl der Experimente im Hinblick auf eine genauere Konzentrationsabstimmung noch zu gering ist. Auch Coffein zeigt sich gegenüber Kalium unwirksam, wodurch die Richtigkeit seiner Einstufung fragwürdig wird. Die Einreihung von Chinidin und Coffein in die Gruppe der durch Repolarisation deblockierend wirkenden Stoffe bleibt also noch etwas problematisch.

Zusammenfassung.

Die durch depolarisierende Stoffe unterbrochene neuromuskuläre Überleitung läßt sich mit Calcium, Chinidin und Coffein wiederherstellen. Diese Stoffe bilden mit Adrenalin als Antagonisten der Depolarisatoren eine Gruppe.

Literatur.

¹ CASTILLO DEL, J., and B. KATZ: J. of Physiol. **120**, 32 P (1953). — CASTILLO DEL, J., and L. ENGBAER: J. of Physiol. **120**, 54 P (1953). — ² COWAN, S. L.: J. of Physiol. **88**, 3 (1936). — ³ GOSSWEILER, N., K. KIPFER, G. PORETTI u. W. RUMMEL: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **20**, Tagungsbericht (1954). — ⁴ KUFFLER, ST. W.: J. of Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — ⁵ LING, G. N.: Phosphor Metabolism **2**, 748 (1952). — ⁶ MALORNY, G., u. G. W. JACOBI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 185 (1952). — ⁷ RAVIN, A.: Amer. J. Physiol. **131**, 230 (1940). — ⁸ RICKER, W. F.: Pharmacol. Rev. **5**, 1 (1953). — ⁹ RUMMEL, W., u. TH. SCHMITZ: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — ¹⁰ WRIGHT, C. J., and J. S. SATINE: J. of Pharmacol. **93**, 230 (1948).

Doz. Dr. W. RUMMEL, Pharmakol. Institut d. Med. Akademie Düsseldorf.

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. H. HELLNER).

Experimentelle Untersuchungen über die Höhe der Ausscheidungen von Thiosemicarbazonen durch Schleimhäute.

Von

H. POPPE, K. HINRICHS, H. STEYER und H. WEIDEMANN.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. April 1954.)

Bereits in früheren Veröffentlichungen der klinischen Erprobung des Contebens und der dabei erzielten Resultate wurde festgestellt, daß besonders alle Formen der *Schleimhaut*-Tuberkulose gut auf Conteben ansprechen. Besonders auffällig war der Erfolg bei den tuberkulösen Geschwüren im Kehlkopf- und Mundbereich, die häufig innerhalb weniger Wochen nach Beginn der Therapie abheilten. Es wurde seinerzeit diskutiert, ob dieser therapeutische Effekt auf die lokale Berührung mit dem Medikament oder einen entsprechend hohen Blut- bzw. Gewebsspiegel zurückzuführen sei. Es wurde schon damals festgestellt, daß der Effekt bei lokalem Verstäuben von Contebepuder auf die tuberkulösen Geschwüre gegenüber der nur oralen Medikation nicht unterschiedlich war.

Bei eigenen experimentellen, quantitativen Versuchen der Resorption, Verteilung und Ausscheidung von Conteben mit Hilfe eines radioaktiv etikettierten Moleküls fiel eine relativ hohe Aktivität im Bereich des Magen-Darm-Traktes auf. Anfangs waren wir geneigt, diesen Befund lediglich auf den ziemlich großen Anteil unresorbierten Contebens zurückzuführen, der bei oraler Medikation durch den Darm ausgeschieden wird. In neuen Versuchen haben wir aber diese Frage einer Überprüfung unterzogen.

Bei unseren Untersuchungen mit dem S^{35} etikettierten Contebemolekül^{4a, b, c} war leicht die Möglichkeit gegeben, neben der Organverteilung die qualitative und quantitative Ausscheidung nach intrapleuraler und intraperitonealer Verabfolgung zu studieren.

Zu diesem Zweck wurden je 13 Ratten und je 12 Meerschweinchen Conteben in wechselnder Dosierung teils intrapleural, teils intraperitoneal in einer physiol. NaCl-Aufschwemmung injiziert.

Die Applikation kann unter Umständen täglich wiederholt werden, ohne daß sich wesentliche Störungen im Allgemeinbefinden der Tiere äußern. Im allgemeinen zeigte sich 24 Std nach der intrapleuralen oder intraperitonealen Applikation bei der Sektion das Bild fibrinöser Beläge und Verklebungen im Injektionsbereich.

Auf Grund der unvollständigen Resorption durch die Pleura oder das Peritoneum in den ersten 24 Std mußte zunächst versucht werden, den

unresorbierten Contebenanteil möglichst quantitativ zu erfassen. Bei 62 Bestimmungen fanden wir, daß nur 2,5% bis maximal 12% der injizierten Menge innerhalb von 24 Std resorbiert werden. Das würde bedeuten, daß selbst für den Fall, wo sich unresorbierte Contebemengen dem Nachweis entzogen haben, der Wert eher zu niedrig als zu hoch gegriffen ist.

Es ergab sich zunächst die überraschende Tatsache, daß in den ersten 24 Std post appl. nach intrapleuraler Verabfolgung das Verhältnis der Kot- zur Urinausscheidung maximal 1 : 2,4 und minimal 1 : 0,9 betrug.

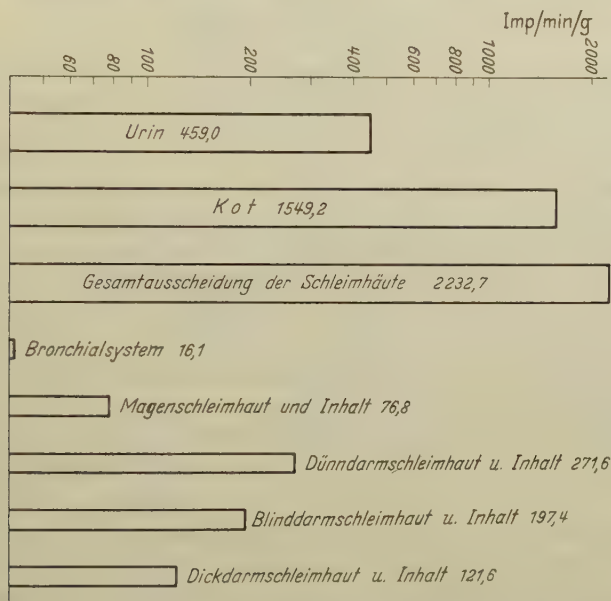


Abb. 1. Organaktivitäten in Imp./min/g nach intraperitonealer Anwendung von Conteben bei einer Resorption von 7 mg 24 Std nach Appl. (Mittelwerte von Ratten, logarithmisch.)

Es ist also dieses Verhältnis der Contebenausscheidung im Mittel von 49 Tieren (Meerschweinchen und Ratten) außerordentlich wechselnd. Bei intraperitonealer Gabe fanden sich ähnliche Verhältniszahlen:

$$\frac{\text{Kot}}{\text{Urin}} = \text{min. } 1:0,8 \text{ bis max. } 1:1,6.$$

Der hohe Ausscheidungsanteil des resorbierten Contebens ganz unabhängig von der Applikationsform durch die Schleimhäute ist danach sehr bemerkenswert. Setzt man unter Berücksichtigung der experimentellen Befunde ein, daß nur z. B. 5 mg resorbiert werden, so beträgt der Ausscheidungsanteil des Urins in 6 Tagen p. i. im günstigsten Versuch insgesamt 34%, während in diesem Fall 14,7% durch den Kot ausgeschieden werden. Auch bei erhöhter Resorption (siehe Abb. 1) ändern sich diese Verhältnisse nicht.

Diese Verhältnisse wechseln jedoch schlagartig, wenn die Tiere eine reichliche Flüssigkeitszufuhr erhalten, im Sinne einer Verschiebung zugunsten der Urinausscheidung. Dabei wurde jedoch ein Verhältnis Kot/Urinausscheidung von 1:2,4 *niemals* überschritten. Somit stehen diese Befunde im Gegensatz zu den Ergebnissen von STURM und WERNITZ⁶, die mit Hilfe ihrer Diazomethode und unter Ausnutzung der Bestimmung des Kupferkomplexbindungsvermögens von Conteben fanden, daß in den ersten 48 Std nach oraler Gabe von 1×100 mg Conteben 70–80% durch den Urin ausgeschieden werden!

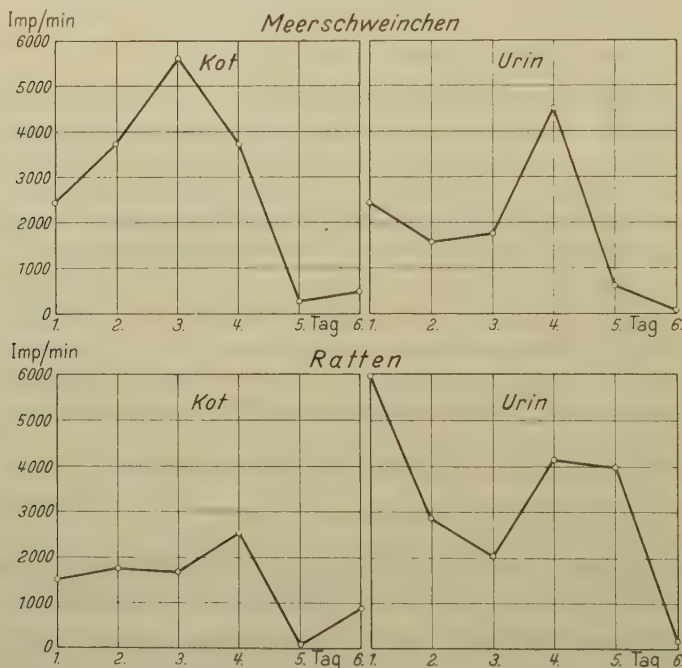


Abb. 2. Ausscheidung der absoluten Mengen von Conteben in Kot und Urin bei intrapleuraler und intraperitonealer Applikation (Mittelwerte).

Auf Grund der obigen Befunde wurden in 2 Versuchsserien die Aktivitäten der einzelnen Organe, die möglicherweise an der Ausscheidung beteiligt sein könnten, von 49 Tieren nach intrapleuraler und intraperitonealer Anwendung untersucht (siehe Abb. 2). Eine subtile Präparation der einzelnen Organe bietet die Gewähr, daß keine größeren Verschleppungen von Conteben durch den Organen außen anhaftende Mengen mit Hilfe des empfindlichen radioaktiven Nachweisverfahrens mitbestimmt wurden. Im Falle der intraperitonealen Applikation wurden jeweils nur

vom Verdauungstrakt die Organinhalte und die Schleimhaut zur Aktivitätsbestimmung herangezogen. Dabei ergaben sich folgende Ausscheidungsverhältnisse:

Intrapleurale Applikation.
(Mittelwert von je 13 Ratten.)

$$\frac{\text{Gesamtausscheidung durch den Verdauungstrakt mit den Schleimhäuten, einschließlich Kehlkopf und Trachea pro g Organ}}{\text{Urin pro ml}} = \frac{2,6}{1}.$$

Intraperitoneale Applikation.
(Mittelwert von 13 Ratten.)

$$\frac{\text{Gesamtausscheidung durch den Verdauungstrakt mit den Schleimhäuten, einschließlich Kehlkopf und Trachea pro g Organ}}{\text{Urin pro ml}} = \frac{4,9}{1}.$$

Wir können auf Grund dieser Untersuchungen allerdings nur Aussagen über die Verhältnisse in den ersten 24 Std machen. Bei Versuchen mit Meerschweinchen sind die Ausscheidungsverhältnisse noch größer zugunsten der Schleimhautausscheidung.

In analogen Untersuchungsreihen wurden auch die Verhältnisse nach Applikation eines anderen Thiosemicarbazons, dem Äthyl-sulfon-benzaldehyd-thiosemicarbazon (Polyteben III) untersucht. Dieser Stoff bietet die Möglichkeit einer Etikettierung sowohl in der Sulfon- als auch in der Carbazongruppe. Wir werden in einer folgenden Mitteilung über diese Ergebnisse berichten. Auch hier ergaben sich im wesentlichen ähnliche Ausscheidungsverhältnisse.

Auf Grund der vergleichenden Untersuchungsergebnisse darf man wohl annehmen, daß der *Ausscheidungsmechanismus für die Thiosemicarbazone allgemein den oben aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten folgt*. Die Organaktivitäten im einzelnen veranschaulicht Tab. 2.

Bei 10tägiger intraperitonealer Applikation von 50 mg Conteben täglich war eine nachweisbare Ausscheidung durch den Verdauungstrakt und die Trachea von 24% der insgesamt in diesem Zeitraum gegebenen Menge festzustellen.

Im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten klinischen Beobachtungen über eine besondere Wirksamkeit des Contebens bei allen Formen von Schleimhauttuberkulose ist dieser Befund interessant. STURM und WERNITZ⁶ hatten auf Grund ihrer quantitativen Contebenstudien gefolgert, daß bei den üblichen oralen Gaben ein therapeutisch wirksamer Blutspiegel beim Menschen nicht erreicht wird. Bei einer Dosierung des Contebens von 0,025—0,1 g täglich liegt der Blutspiegel nach UV-spektrographischen Untersuchungen bei Konzentrationen von weniger als 1 : 1000000 (unter 0,1 mg%). Eine Bakteriostase von *Mycobakt. tuberculosis* findet hierbei im Reagenzglas nicht mehr statt!

Bei unseren Versuchen zeigt sich nun, daß nach Resorption von z. B. 5 mg Conteben bei intraperitonealer Gabe $9,75\% = 487 \gamma$ Conteben-Äquiv. und max. 965γ in den Schleimhäuten des Magen-Darm-Traktes sowie Trachea und Larynx wiedererscheinen. Das entspricht bei einem Mittelgewicht sämtlicher angegebener Organe einschließlich ihrer Ausscheidungen von 7,64 g einer Contebenkonzentration von 1 : 157 000 min bzw. 1 : 89 600 max. Bei dieser Konzentration ist aber nach den grundlegenden experimentellen Untersuchungen von DOMAGK¹ die bakteriostatische Wirkung völlig sicher. Die bisherigen Publikationen^{1, 2, 3, 5} konnten infolge einer nur auf Körpersäfte beschränkten Nachweismöglichkeit (Blut, Urin) *Contebenkonzentrationen* 1 : 500 000—1 : 1 000 000 nachweisen. Die Rolle der „Speicherungsfunktion“ der Schleimhäute im Intermediärstoffwechsel blieb dabei auf Grund der angewandten Methodik (Diazotierung, Kupferkomplexbindung usw.) unberücksichtigt.

Aus dem Ausscheidungsmechanismus des Contebens durch die Schleimhäute läßt sich also die auffällig gute Wirkung bei allen Formen der Schleimhauttuberkulose erklären.

Zusammenfassung.

In 245 Organuntersuchungen von Ratten und Meerschweinchen wurden die Ausscheidungsverhältnisse nach einmaliger und wiederholter intrapleuraler und intraperitonealer Applikation von Conteben untersucht. Dabei ergab sich der überraschende Befund einer recht erheblichen Ausscheidung durch die Schleimhäute des Magen-Darm-Traktes. Nach Berechnung der absoluten Mengen von Conteben, die innerhalb 24 Std p. appl. durch die Schleimhäute ausgeschieden werden, zeigt sich, daß an diesen Stellen eine bakteriostatische Wirksamkeit erreicht wird. Dadurch erklärt sich die auffällig gute Wirkung des Contebens bei allen Formen der Schleimhauttuberkulose.

Literatur.

- ¹ DOMAGK, G.: a) Bericht auf der Tagung des Chemotherapeutischen Beirates, Falkenstein 1950. — b) Chemotherapie der Tuberkulose mit den Thiosemicarbazonen. Stuttgart: G. Thieme 1950. — ² GEKS, F. J.: a) Klin. Wschr. 1950, 335. — b) Z. Hyg. 130, 622 (1950); c) 131, 345 (1950). — ³ HEILMEYER, L., u. J.: Klin. Wschr. 1949, 790. — ⁴ HINRICHS, K., H. POPPE u. H. STEYER: a) Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 218, 193 (1953); b) 221, 6 (1954); c) (im Druck). — ⁵ SIMMONS, HOBSON, RESNICK, DENICOLA and BENNET: Amer. Rev. Tbc. 62, 128 (1950). — ⁶ STURM u. WERNITZ: Dtsch. med. Wschr. 1951, 705.

Dr. H. POPPE, Göttingen, Chirurg. Univ.-Klinik.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN).

Anaphylaktoide Reaktionen durch künstliche Blutersatzstoffe.

Von

F. HAHN, A. LANGE und H. GIERTZ.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. April 1954.)

Eine Voraussetzung für die Eignung eines Kolloids als Zusatz zu Plasmaersatzflüssigkeiten („Plasma expander“) ist das Fehlen antigener Wirksamkeit. Die ursprünglichen schwedischen Angaben über das serologisch innerte Verhalten der für klinische Zwecke bestimmten Dextranpräparate (GRÖNWALL u. INGELMAN; INGELMAN; THORSEN) wurde durch HEHRE, SUGG u. NEILL widerlegt, nachdem die gleichen Autoren schon früher die serologische Reaktionsfähigkeit von nativem, d. h. nicht hydrolysiertem Dextran erwiesen hatten. Dextran reagiert mit Antikörpern gegen *Leuconostoc mesenteroides*, *Pneumococcus* Typ 2 und 20 (bisweilen auch 12), manche Streptokokken, *Typhusbacillus* und andere *Salmonella*-arten im Präcipitin- und Komplementbindungstest und löst bei passiv mit Antipneumokokkenserum sensibilisierten Meerschweinchen einen anaphylaktischen Schock aus. Die Beziehung dieser Erscheinungen zu toxischen Reaktionen allergischen Aussehens in der Klinik (vgl. PULASKI) liegt um so mehr auf der Hand, als die antigene Wirksamkeit nativen und hydrolysierten Dextrans durch die Fähigkeit zur Sensibilisierung und Antikörperbildung bei subcutaner Injektion (KABAT), ferner durch die Existenz von Agglutininen gegen *Leuconostoc*-Bacillen sowie positiven Hauttesten gegen Dextran bei einer beträchtlichen Zahl normaler Personen festgestellt wurde. Andererseits wurde eine Sensibilisierung durch Dextraninfusionen vermißt. Insbesondere scheint aber die Frage der Beziehung zwischen dem Vorkommen klinischer Unerträglichkeitserscheinungen und serologischem Verhalten des Patienten (Hauttest oder Antikörpertest) noch ungeklärt (vgl. KABAT; WARREN u. Mitarb.; SEELEY u. PULASKI).

Noch ganz offen ist die Frage eines etwaigen Haptencharakters von Polyvinylpyrrolidon (= Kollidon, PVP, im Periston enthalten), die von JECKELN auf Grund morphologischer Befunde vermutet wird.

Im Tierversuch kann Dextran und PVP auch sogenannte „anaphylaktoide“ Reaktionen auslösen. Dieser Begriff wird meist umfassend und ohne konkrete Vorstellung über den zugrunde liegenden Mechanismus

für solche Vorgänge angewandt, die irgendwelche äußerliche Ähnlichkeiten mit allergischen Phänomen haben. Zahlreiche Substanzen (vgl. hierzu die Untersuchungen von HANZLIK u. KARSSNER), kolloidale und nicht kolloidale, kommen als auslösende Substanzen in Betracht, wenn man das gemeinsame Moment in der schockartigen Reaktion erblickt. Legt man bestimmte pathogenetische Kriterien zugrunde, so engt sich der Kreis rasch ein, am stärksten wohl, wenn man die Beteiligung einer Antigen-Antikörperreaktion fordert (DOERR). Bei der heutigen Bedeutung der Histamintheorie der Anaphylaxie liegt es auch nahe, die Histaminfreisetzung als Kriterium anaphylaktoider Prozesse zu verwenden. Diesem so gefaßten Begriff lassen sich 2 tierexperimentelle Beobachtungen mit künstlichen Blutersatzmitteln unterordnen: die Toxicität des Dextrans für die Ratte und des PVP für den Hund.

Der Kollaps des Hundes nach PVP (HECHT u. WEESE; CLERC; LOUBATIERES, BINET u. BURSTEIN) läßt sich durch Antihistaminica hemmen (HECHT u. WEESE) und geht mit dem Auftreten einer vasodilatierenden Substanz einher (BINET u. BURSTEIN), die wahrscheinlich Histamin ist (HAHN u. WELLMANN).

Anscheinend spielt das Histamin auch eine Rolle bei der Entstehung der Ödeme und sonstigen toxischen Erscheinungen, die das Dextran bei der Ratte auslöst (WOORHES, BAKER u. PULASKI), obwohl diese bekanntlich sehr histaminrefraktär ist. Die von BRIOT u. HALPERN zugunsten der Histamintheorie ins Feld geführte Verstärkung der allgemeinen Dextrantoxizität bei der Ratte durch Nebennierenexstirpation sowie die Störungen der Gefäßpermeabilität haben nur den Charakter indirekter Hinweise. Wichtiger ist die Beobachtung einer Schutzwirkung der Antihistaminica (besonders Phenergan nach BRIOT u. HALPERN). Doch ist sie nicht bei allen Antihistaminica nachweisbar. MORRISON, RICHARDSON u. BLOOM fanden von 5 Antihistaminica nur das Thephorin wirksam. Nach unseren im Gegensatz zu HALPERN stehenden Erfahrungen wirkt auch Neosantergan, jedoch nur in hohen Dosen (30 mg/kg). Andererseits haben auch Adrenalin, Lokalanaesthetica, Cortison, Isonicotinsäurehydrazid, Alloxan eine Schutzwirkung (BRIOT u. HALPERN; MORRISON, RICHARDSON u. BLOOM; EDLUND, LÖFGREN u. VÄLI; DOMENJOZ). Neuerdings haben aber HALPERN u. BRIOT den direkten Beweis einer „explosiven“ Histaminfreisetzung durch Dextran aus in RINGER-Lösung suspendierten Hautstückchen der Ratte *in vitro* geliefert.

Unabhängig hiervon haben wir (HAHN u. WELLMANN) auch im Blute einiger Ratten nach Dextraninjektion, nicht so nach Injektion von PVP, eine Histaminvermehrung gefunden. In neueren Untersuchungen konnten wir diesen Effekt an einem größeren Material und zugleich auch für Plasma und Serum bestätigen.

Wir injizierten 250–300 g schweren Ratten 0,5 cm³ pro 100 g 6%iges Dextran (Macrodex-Lösung) (gelöst bei 80° C in 0,9%iger NaCl-Lösung) in die Schwanzvene und entnahmen 5–10 min später Blut durch Herzpunktion. Die Kontrollen erhielten nur physiol. Kochsalzlösung. Die Histaminbestimmung erfolgte nach CODE im Vollblut, Oxalatplasma (10 mg Natriumoxalat zu 3 cm³ Blut) und Serum.

Der Anstieg des Histamins nach Dextran ist im Plasma am stärksten ausgeprägt, wo das Histamin das mehr als Dreifache des Kontrollwertes

Tabelle 1. *Histamin (γ/cm^3) in Vollblut, Plasma und Serum von Ratten nach Injektion von NaCl-Lösung, Dextran, Inulin, Inulinanaphylatoxin aus Rattenserum und nativem Rattenserum (s. Text). n = Zahl der Versuche.*

	NaCl	n	Dextran	n	Inulin	n	PVP	n	Inulin-Anaphylatoxin aus Rattenserum	n	Rattenserum nativ	n
Vollblut	0,139 $\pm 0,098$	20	0,233 $\pm 0,16$	20	—	—	—	—	—	—	—	—
Plasma	0,096 $\pm 0,049$	32	0,309 $\pm 0,162$	52	0,091 $\pm 0,056$	20	0,08 $\pm 0,031$	20	0,065 $\pm 0,035$	10	0,065 $\pm 0,044$	10
Serum	0,113 $\pm 0,03$	20	0,243 $\pm 0,094$	20	0,133 $\pm 0,052$	20	—	—	—	—	—	—

erreicht (Tab. 1). Die Unterschiede sind aber auch bei den Serum- und Vollblutwerten signifikant. Normalerweise ist die Histaminkonzentration im Vollblut höher als im Plasma, wie die Kontrollen zeigen. Die Histaminvermehrung im Plasma nach Dextran ist aber so groß, daß sich das Verhältnis von Plasma- und Vollbluthistamin umkehrt.

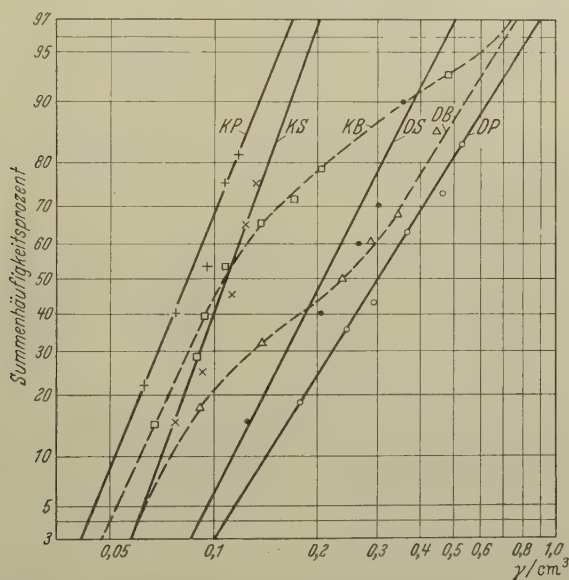


Abb. 1. Histamin (γ/cm^3) in Kontrollblut = $\square$ (KB), -plasma = $+$ (KP) und -serum = $\times$ (KS) sowie Dextranblut = $\triangle$ (DB), -plasma = $\circ$ (DP) und -serum = $\bullet$ (DS) von Ratten.

Im Wahrscheinlichkeitsnetz (Abb. 1) stellt sich die Verteilung der Histaminwerte bei logarithmischer Merkmalseinteilung für Serum und Plasma annähernd als eine gerade Linie dar. Dagegen ist die Verteilung

der Blutwerte nur durch gekrümmte Linien wiederzugeben, was darauf hinweist, daß hier Mischkollektive vorliegen (siehe DAVES u. BECKEL). Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß im Vollblut sich die voneinander unabhängigen Verteilungskurven von Plasmahistamin und Blutkörperchenhistamin überlagern¹.

Da auch das Gesamtbluthistamin ansteigt, kommt als Hauptquelle für den vermehrten Histamingehalt im Plasma nur eine Ausschüttung von Histamin aus dem übrigen Körpergewebe ins Blut in Frage, und nicht ein Wechsel des Histamins aus den corpusculären Blutelementen

Tabelle 2. *Blutbilder vor und nach Dextran* (Kontrolle: NaCl-Lösung) *bei Ratten*.

		Leukocyten			Thrombo- cyten	Erythro- cyten
		Gesamtzahl	Segment- kernige	Lymphocyten		
NaCl	vorher	17800	4800	12600	262000	6200000
		± 6470	± 2440	± 5550	± 165000	± 879000
	nachher	17800	4320	13400	194000	6150000
		± 6780 (n = 26)	± 2850 (n = 25)	± 5370 (n = 25)	± 111000 (n = 23)	± 944000 (n = 25)
Dextran	vorher	15600	4460	10500	249000	6250000
		± 5360	± 3040	± 4280	± 132000	± 854000
	nachher	10900	2170	8400	128000	6150000
		± 3960 (n = 29)	± 1880 (n = 25)	± 4090 (n = 25)	± 109000 (n = 29)	± 886000 (n = 25)

ins Plasma. In erster Linie ist nach HALPERN u. BRIOT an die Haut zu denken. Die Beteiligung anderer Organe ist zur Zeit noch Gegenstand unserer Untersuchungen.

Die als Histaminträger in Betracht kommenden Leukocyten und Thrombocyten zeigen nach Dextran einen signifikanten Abfall (Tab. 2). Die Blutzellen wurden hier vor und nach der Injektion von Dextran bzw. (bei den Kontrollen) von Kochsalzlösung jeweils an demselben Tier bestimmt. Die Leukocyten sinken auf etwa $\frac{2}{3}$ des Ausgangswertes, und zwar hauptsächlich durch Verminderung der Segmentkernigen, die Thrombocyten auf etwa die Hälfte. Der durch Kochsalzlösung bedingte Abfall der Blutplättchen ist nicht signifikant. Die Erythrocyten zeigen keine wesentlichen Veränderungen. Es ist wahrscheinlich, daß die Leukocyten und Thrombocyten in bestimmten Organen des Körpers (Lunge, Leber) zurückgehalten werden.

Unsere Histaminwerte im Vollblut sind daher wahrscheinlich die Resultante zweier gegenläufiger Prozesse: einer Histaminausschüttung aus dem Gewebe ins Plasma und einer Abwanderung vermutlich histaminhaltiger Zellen aus der Blut-

¹ *Anm. bei der Korrektur:* Die Histaminvermehrung im Plasma ist, wie wir inzwischen feststellen konnten, nach 40 min noch unverändert vorhanden. Auch nach 2 Std beträgt das Histamin noch etwa das Doppelte der Norm.

bahn. Daß ein Prozeß von der Art des zweiten unter Umständen den ersten völlig überdecken kann, haben wir (GIERTZ u. HAHN) an einem anderen Beispiel gezeigt.

Aus den weißen Blutzellen tritt während der Blutgerinnung Histamin in das sich bildende Serum über. Deshalb steigt normalerweise das Serumphistamin über den Plasmawert an. In unseren Versuchen kommt dieser Unterschied deutlich nur bei der Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz (Abb. 1) zum Ausdruck. Auch dieser Vorgang muß durch die Abwanderung der weißen Zellen aus dem Blute abgeschwächt werden. In unseren Versuchen (Tab. 1 und Abb. 1) war sogar bei den Dextrantieren das Serumphistamin niedriger als das Plasmahistamin, möglicherweise infolge einer Diffusion von Histamin in die Zellen während der eine längere Zeit in Anspruch nehmenden Blutgerinnung (zur Plasmagewinnung wurde das Blut stets sofort nach der Entnahme zentrifugiert). Auf eine solche Möglichkeit weisen die Versuche von ANREP, BARSOUM, TALAAT u. WENINGER sowie von EICHLER u. BARFUSS hin.

PVP (0,5 cm³ 3,5% ige Lösung pro 100 g i.v.) erzeugt bei Ratten keine Histaminvermehrung im Plasma (Tab. 1), dagegen bei Hunden (HAHN u. WELLMANN). Andererseits ist nach unseren früheren Versuchen Dextran bei Hunden wirkungslos. Wie wir inzwischen feststellten, haben bei Meer-schweinchen beide Stoffe, Dextran und PVP, keine histaminausschüttende Wirkung. Wir bestimmten das Plasmahistamin vor und nach der Injektion von Dextran (2 cm³/100 g 17% ige Lösung) bzw. PVP (2 cm³/100 g 10% ige Lösung) und fanden keinen Unterschied (7 Versuche).

Zur Deutung der artspezifisch begrenzten Wirkung des Dextrans war uns der Hinweis von ROCHA E SILVA wichtig, daß das Ratten Serum eine besondere Eignung zur Anaphylatoxinbildung besitzt. ROCHA E SILVA stützte sich hierbei auf eigene Beobachtungen, die ältere Befunde von NOVY u. DE KRUIF bestätigten. Hierdurch ergab sich die Frage, ob Dextran mit Bestandteilen des Rattenplasmas in vivo einen histaminfreisetzenden Faktor nach Art des Anaphylatoxins bilden könnte. Die Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung in vitro mit verschiedenen Serumarten ist von anderen Polysacchariden (Stärke, Inulin) schon längst bekannt. Die Zurückführung des Rattenödems auf eine Anaphylatoxinwirkung müßte allerdings im Widerspruch zu dem Befunde HALPERNS stehen, wonach Dextran direkt ohne Vermittlung von Plasmafaktoren aus den Hautzellen der Ratten Histamin freisetzt. Doch bestand immer noch die Möglichkeit, einen humoralen neben einem cellulären Mechanismus anzunehmen, eine Auffassung, die der eine von uns (HAHN) kürzlich noch vertreten hat.

Die Lehre vom Anaphylatoxin stammt bekanntlich von FRIEDBERGER, der hiermit eine humorale Theorie der Anaphylaxie begründen wollte. Er konnte zeigen, daß Serum durch Vorbehandlung mit bestimmten Stoffen toxische Eigenschaften erhält. Die Vorbehandlung bestand ursprünglich in dem Kontakt des Serums mit Immunpräcipitaten. Später wurde gefunden, daß auch Agar-Agar, Stärke, Inulin und andere Stoffe für die Bildung von Anaphylatoxin geeignet sind. Als „Anaphylatoxin“ (später auch als „Serotoxin“) wird gewöhnlich das vorübergehend mit den Kontaktsubstanzen in Berührung gebrachte und dann wieder klar zentrifugierte Serum bezeichnet. Die Wirkung solcher aktivierten Sera besteht in der Erzeugung

von Schockzuständen, die dem anaphylaktischen Schock sehr ähnlich sind. Das Meerschweinchen ist besonders für die Prüfung der Anaphylatoxinwirkung geeignet. Auch Meerschweinchen Serum selbst wird durch die Vorbehandlung für Meerschweinchen toxisch.

Das Interesse an diesem eigentümlichen Phänomen, das nie richtig aufgeklärt worden ist, erlosch durch den Siegeszug der Cellulartheorie der Anaphylaxie, etwa seit den Untersuchungen von DALE u. KELLAWAY. Nach fast 30jähriger Ruhezeit ist das Problem erstmalig wieder von uns (HAHN u. OBERDORF) aufgenommen und von ROCHA E SILVA weiter bearbeitet worden. Die Wiederaufnahme geschah unter dem Aspekt, die Frage eines etwaigen Zusammenhangs mit den anaphylaktischen Erscheinungen vom Standpunkt der Histamintheorie aus zu prüfen. Es konnte gezeigt werden, daß Antihistaminica den Schock durch Inulin-Anaphylatoxin bei Meerschweinchen hemmen (HAHN u. OBERDORF), daß Agar-Anaphylatoxin aus der isolierten Meerschweinchenlunge Histamin freimacht (ROCHA E SILVA) und daß im Inulin-Anaphylatoxinschock der Histaminspiegel im Plasma des Meerschweinchens steigt (HAHN).

Wir hatten zunächst in Analogie zu den Versuchen mit anderen Polysacchariden die Fähigkeit des Dextrans zur Anaphylatoxinbildung *in vitro* zu prüfen. Dazu wurde Rattenserum mit Dextran behandelt und an dem für Anaphylatoxin besonders empfindlichen Meerschweinchen ausgetestet.

Dextran wurde entweder in Lösung oder in fester, aber fein pulverisierter Form in Mengen von 5,50 und 500 mg zu 10 cm³ Rattenserum zugesetzt, die Mischung (15—) 60 min bei 37° C gehalten und, falls Dextran in fester Form zugesetzt war, von ungelösten Dextrananteilen durch Zentrifugieren (20 min bei 3000 Umdrehungen) befreit.

Das so vorbehandelte Serum wurde Meerschweinchen intravenös (Jugularvene) injiziert. Es entwickelte sich dabei in der Tat ein typischer Schock mit Lungenblähung, der durch Antihistaminica (0,25 mg/kg Neoantergan) gehemmt werden konnte, also höchstwahrscheinlich auf Histamin beruhte. Bei Verwendung von festem Dextran (500 mg pro 10 cm³) betrug die kleinste letale Dosis des so vorbehandelten Rattensersums 0,2 cm³/100 g Meerschweinchen, während die letale Dosis von nicht aktiviertem Rattenserum 4 cm³/100 g und von Dextran in gelöster Form 750 mg/100 g war. Die Zunahme der Toxizität des Rattensersums durch den Kontakt mit Dextran kann also das 200fache betragen. Die stärkste Anaphylatoxinbildung wurde durch Zusatz von festem Dextran erreicht. Es genügte dann schon die Zugabe von 5 mg Dextran zu 10 cm³, um ein starkes Anaphylatoxin zu erhalten, obwohl der größte Teil selbst von dieser kleinen Menge nicht in Lösung geht und nach dem Zentrifugieren wieder entfernt wird. Nach Aktivierung des Rattensersums mit 500 mg gelösten Dextrans (5, 10 und 15% ige Lösung, hergestellt durch Erhitzen auf 80°) zu 10 cm³ Serum betrugen die kleinsten tödlichen Serumdosen 0,5—1,0 cm³/100 g¹. Gelöstes Dextran gab also ein schwächeres Anaphylatoxin als festes Dextran.

¹ Die Verdünnung des Serums spielt dabei keine Rolle, wie Kontrollversuche mit durch NaCl-Lösung verdünntem Serum und festem Dextran ergaben.

Die Anaphylatoxinbildung war nicht nachweisbar mit Hunde- und Kaninchenserum. Meerschweinchen Serum lieferte ein selbst bei einer Dosierung von 2 cm³/100 g (Tab. 3) kaum wirkendes Anaphylatoxin (50 mg festes Dextran zu 10 cm³ Serum).

Tabelle 3. Wirkung von Dextran- und Inulinanaphylatoxin aus Ratten- und Meerschweinchen Serum auf Meerschweinchen.

Serumart	Dosis cm ³ /100 g Meerschw.	Dextrananaphylatoxin		Inulinanaphylatoxin	
		Versuchszahl	tödl. Schock	Versuchszahl	tödl. Schock
Meerschweinchen. .	2,0	12	1	12	7
Ratte.	1,0	4	3	4	2
	0,5	9	4	9	4
	0,3	4	3	4	2
	0,2	3	1	3	2
	0,1	3	0	3	0

Durch die Vorbehandlung des Rattenserums mit Dextran steigt nicht etwa der Histamingehalt in diesem an, wie wir feststellen konnten. In Analogie zu Anaphylatoxinen anderer Genese muß daher angenommen werden, daß das Dextran-Anaphylatoxin Histamin erst im Organismus des Meerschweinchens freimacht.

Einstündige Erhitzung des Rattenserums auf 60° hebt seine Eignung zur Anaphylatoxinbildung mit Dextran auf. Das durch Inkubation mit Dextran einmal gebildete Anaphylatoxin widersteht dieser Temperatur und wird selbst bei 70° nur abgeschwächt. Diese Eigenschaften teilt das Dextran-Anaphylatoxin mit anderen Anaphylatoxinen.

Die Anaphylatoxinbildung durch Dextran und Rattenserum verläuft sehr rasch. So genügt es schon unmittelbar nach Zusatz von festem Dextran das Rattenserum zu zentrifugieren. Durch Inkubation bei 38° wird die Wirkung allerdings verstärkt.

Trotz des in vitro gelungenen Nachweises einer besonders wirksamen Anaphylatoxinbildung speziell durch Dextran und Rattenserum läßt sich das nach Einverleibung von Dextran auftretende Ödem bei der Ratte wahrscheinlich nicht auf eine intermediäre Anaphylatoxinbildung zurückführen. Inulin z. B. bildet mit Rattenserum in den gleichen Gewichtsmengen (50 mg feste Substanz pro 10 cm³ Serum) ein auf Meerschweinchen genau so stark wirkendes Anaphylatoxin wie Dextran. Trotzdem läßt sich mit Inulinlösungen bei der Ratte kein Ödem erzeugen. Wir prüften Inulin in Dosen bis 60 mg/100 g in 6% iger Lösung, während für die ödemerzeugende Wirkung des Dextrans in Lösung noch 5 mg/100 g genügen. Auch gelang es nicht, mit einem aus Rattenserum gebildeten Inulin-Anaphylatoxin (500—1000 mg festes Inulin/10 cm³ Serum) ein Rattenödem zu erzeugen.

Ebenso wenig erzeugte Inulin und aus Inulin mit Rattenserum hergestelltes Anaphylatoxin bei Ratten eine Histaminvermehrung im Plasma (Tab. 1). Wir injizierten $0,5 \text{ cm}^3$ 6%ige Inulinlösung pro 100 g Ratte.

Das Inulin-Anaphylatoxin wurde hergestellt durch Inkubierung von Rattenserum mit Inulin in Substanz (50 mg pro 10 cm^3 Serum) 1 Std bei 37° . Nach dem Abzentrifugieren des Inulins wurden $0,5 \text{ cm}^3$ des Serums pro 100 g Ratte injiziert. Als Kontrollen dienten Ratten, denen die gleiche Menge eines aus derselben Charge (Mischserum) gewonnenen nativen, d. h. nicht mit Inulin aktivierten Rattenserums in die Schwanzvene injiziert worden war.

Die Histaminwerte im Plasma liegen sowohl nach Anaphylatoxin als auch nach nativem Rattenserum sogar sehr niedrig. Wir verweisen hier auf die gleiche Beobachtung, die wir (HAHN) an Meerschweinchen nach der Injektion von art-eigenem Serum erhalten haben, und auf die dort gegebene Deutung.

Das an Ratten geprüfte Anaphylatoxin wurde auch am Meerschweinchen ausgetestet und dort als voll wirksam gefunden. Es tötete mit $0,5 \text{ cm}^3$ pro 100 g die Meerschweinchen im typischen Schock.

Auffallend ist lediglich, daß das Inulin im Gegensatz zum Dextran auch mit Meerschweinchenserum ein stark wirksames Anaphylatoxin bildet, das nur wenig schwächer war als das mit Rattenserum gebildete (Tab. 3). Daraus ergibt sich immerhin, daß die anaphylatoxinbildenden Fähigkeiten des Dextrans stärker art-spezifisch auf Rattenserum begrenzt sind als die des Inulins.

Zwar gelang es, ein Ödem bei der Ratte zu erzeugen, wenn Rattenserum mit festem Dextran ($500 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$) wie zur Anaphylatoxin-darstellung inkubiert und nach Befreiung von ungelöstem Dextran durch Zentrifugieren den Ratten ein-verleibt wurde. Den gleichen Befund erhält man aber auch mit auf 60° erhitztem Rattenserum, mit Hunde- oder Kaninchenserum, die sich zur Anaphylatoxin-bildung mit Dextran nicht eignen, ja sogar mit einfacher Kochsalzlösung. Er ist daher nicht auf in vitro gebildetes Anaphylatoxin zurückzuführen, sondern einfach auf die Dextran-puren, die in Serum bzw. Kochsalz in Lösung gehen.

Wir hatten Gelegenheit, auch 2 Sonderfraktionen von Dextran zu untersuchen, und zwar mit seinem sehr niedrigen und sehr hohen Molekulargewicht (20000 respektive 400000). Das in den sonstigen Versuchen verwendete Dextran (Macrodex) hatte ein mittleres Molekulargewicht von 80000 — 200000 . Auch bei diesen Versuchen ergab sich eine Diskrepanz zwischen ödemerzeugender und anaphylatoxinbildender Wirkung. Während sowohl die nieder- als auch die hochmolekulare Fraktion bei Ratten Ödem erzeugte, ohne daß ein deutlicher Unterschied in der Stärke der Wirkung bestand, gelang es nicht mit der niedermolekularen Fraktion in (15% iger) Lösung ein Anaphylatoxin mit Rattenserum zu bilden. Die hochmolekulare Fraktion war hingegen wirksam. Es war jedoch möglich, auch mit der niedermolekularen Fraktion ein Anaphylatoxin zu erhalten, wenn sie in pulverisierter fester Form zum Serum zugesetzt wurde. Das gleiche gelang auch wieder mit der hochmolekularen Fraktion.

Nur einen Parallelismus zwischen ödem- und anaphylatoxin-erzeugender Wirkung des Dextran konnten wir feststellen. Setzt man 500 mg festes Dextran zu

Kochsalz oder Rattenserum und zentrifugiert die Aufschwemmung nach 1stündiger Inkubation bei 38° wieder ab, so reicht die klar zentrifugierte Flüssigkeit zur Ödemerzeugung in so kleinen Mengen (z. B. 0,5 cm³/100 g) aus, daß sich besonders unter Berücksichtigung des Umstandes, daß der größte Teil nicht in Lösung geht, Dextranmengen als wirksam ergeben, die weit unter den wirksamen Grenzdosen des bei 80° gelösten Dextrans (5 mg/kg) liegen. Durch die Erwärmung auf 80° werden also die ödemerzeugenden Eigenschaften des Dextrans offenbar ebenso herabgesetzt wie es nach den bereits oben erwähnten Versuchen für die anaphylatoxinbildenden Eigenschaften der Fall ist.

Um trotz unserer Befunde eine Anaphylatoxintheorie des Dextranödems bei der Ratte aufrecht zu halten, müßte man die durch nichts gestützte Annahme machen, daß sich nach Injektion von Dextran bei der Ratte im strömenden Blut noch ein besonderes, nur für die Ratte wirksames Anaphylatoxin bildet. Einstweilen bleibt lediglich die Feststellung übrig, daß Dextran wie andere Polysaccharide zur Anaphylatoxinbildung befähigt ist. Im Hinblick auf das übergeordnete Problem der Entstehung anaphylaktoider Reaktionen durch künstliche Blutersatzmittel verdient aber auch dieser Befund Interesse. Es wäre zu prüfen, inwieweit Menschenserum, etwa unter der besonderen Bedingung einer pathologisch abweichenden Serumstruktur befähigt ist, mit Dextran Anaphylatoxin zu bilden. Es besteht ja die Möglichkeit, daß der Mensch gegenüber Anaphylatoxin eine höhere Empfindlichkeit als die Ratte besitzt. Es scheint, daß die Empfindlichkeit gegenüber Anaphylatoxinen mit der echten anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft, die beim Menschen ja vorhanden ist, bis zu einem gewissen Grade parallel geht. Diese Tatsache wird in unseren Versuchen durch das unterschiedliche Verhalten von Ratten und Meerschweinchen erneut unterstrichen. Es besteht zwar auch eine Beziehung zwischen Anaphylaxieempfindlichkeit und Histaminempfindlichkeit der Tierarten. Wie die Reaktion auf Dextran beweist, kann aber die Ratte grundsätzlich mit Histaminausschüttung und dadurch bedingten pathologischen Erscheinungen reagieren. So entsteht die Frage, ob nicht vielmehr in erster Linie die Fähigkeit, auf eine Antigen-Antikörperreaktion mit Histaminausschüttung zu reagieren, bei beiden Tierarten verschieden ausgebildet ist. Die Beziehung zwischen Anaphylatoxinwirkung und Anaphylaxie ist von uns (HAHN u. OBERDORF) und später noch eingehender von ROCHA E SILVA u. Mitarb. diskutiert worden.

Es ist uns bisher nicht gelungen, mit Hundeserum und PVP auf ein Meerschweinchen wirkendes Anaphylatoxin darzustellen. Hier ist es daher von vornherein wahrscheinlich, daß die spezielle Giftigkeit des PVP für Hunde nicht auf einer Anaphylatoxinbildung beruht. Andererseits gehört der Hund zu den anaphylaxieempfindlichen Tieren. Über seine Empfindlichkeit gegenüber Anaphylatoxinen ist nichts Sicheres bekannt.

Anhang.

Für anaphylaktoide Reaktionen durch künstliche Blutersatzmittel kommt aber noch ein weiterer Mechanismus in Betracht. PAUTRIZEL u. PAUTRIZEL-BEZIAN haben gefunden, daß PVP durch seine verstärkende Wirkung auf Antigen-Antikörperreaktionen die anaphylaktischen Reaktionen bei sensibilisierten Meerschweinchen *in vivo* wie auch *in vitro* (SCHULZ-DALEScher Test) verstärkt. Wir nahmen unsere Untersuchungen über den inversen Schock (vgl. GIERTZ u. HAHN) zum Anlaß, um auch die Wirkung von künstlichen Blutersatzmitteln auf den durch heterogenetisches Antiserum (Hammelbluthämolyisin) bei Meerschweinchen auslösbaren Schock zu prüfen. Bei 3 Gruppen von Meerschweinchen, bei denen die 1. Gruppe 2 cm³/100 g 10% PVP, die 2. Gruppe 2 cm³/100 g 17% Dextran und die 3. Gruppe (zur Kontrolle) 2 cm³/100 g Kochsalz erhalten hatte, injizierten wir unmittelbar nach diesen Vorinjektionen je 0,02 cm³ pro 100 g hämolytischen Amboceptor. Die Injektionen erfolgten unter örtlicher Betäubung mit Novocain (stets 0,2 cm³ 2% Novocainlösung/100 g) in die Jugularis. Während von 22 Kontrolltieren nur 4 einen tödlichen Schock aufwiesen, starben von 29 mit PVP vorbehandelten Tieren 23. Von 10 nur mit PVP injizierten Meerschweinchen starb 1 Tier unter den Zeichen eines hämorrhagischen Ödems der Lunge. Von 17 Dextrantieren starben nach Hammelbluthämolyisin nur 2. In einer weiteren Versuchsserie wurde die PVP und Dextranmenge auf die Hälfte herabgesetzt. Auch dann starben nach der Injektion von Amboceptor von 6 mit PVP vorbehandelten Tieren noch 5, während die gleiche Zahl mit Dextran bzw. Kochsalz vorbehandelter Tiere überlebte. Die Wirkung des PVP auf den inversen Schock kam, abgesehen von der Erhöhung der Mortalität, auch in der Verstärkung des anatomisch und klinisch nachweisbaren hämorrhagischen Lungenödems zum Ausdruck.

Diese Befunde sind im Hinblick darauf interessant, daß Antigen-Antikörperreaktionen nach Art der invers-anaphylaktischen (oder vielleicht besser cytotoxischen) Antikörperwirkungen bei der Autoantikörperwirkung eine Rolle spielen. Bekannt ist auch, daß *in vitro* die auf Autoantikörperbildung beruhenden Autoagglutinationsvorgänge durch PVP verstärkt werden, wie es zuerst von uns (HEILMEYER, HAHN u. SCHUBOTHE sowie BRÜGGEMANN u. HAHN) und später auch von anderen beschrieben worden ist.

Schlußfolgerung.

Durch die hier mitgeteilten Beobachtungen, die noch weiterer Bearbeitung bedürfen, ist festgestellt, daß zur Erklärung unerwarteter Reaktionen nach Infusion künstlicher Blutersatzflüssigkeiten grundsätzlich 4 Möglichkeiten in Betracht gezogen werden müssen:

1. eine Antigenfunktion der kolloidalen Blutersatzbestandteile (Dextran),
2. eine direkte histaminfreisetzende Wirkung (Dextran, PVP),
3. eine Histaminfreisetzung durch Anaphylatoxinbildung (Dextran),
4. eine Verstärkung von Antigen-Antikörperreaktionen und damit eine fördernde Wirkung auf allergische und cytotoxische Prozesse (PVP).

Das Wesen des Anaphylatoxins ist noch durchaus rätselhaft (siehe HAHN). Nicht minder sind es die artspezifischen Begrenzungen, die die Empfindlichkeit der Tiere gegenüber hochpolymeren Stoffen (Dextran und PVP) sowie dem Anaphylatoxin bestimmen.

Zusammenfassung.

1. Dextran erzeugt bei Ratten eine Histaminvermehrung im Plasma um etwa das 3fache der Norm durch Ausschüttung von Histamin aus dem Körpergewebe ins Blut.
2. Dextran bildet mit Rattenserum ein auf Meerschweinchen stark wirkendes Anaphylatoxin, nur ein sehr schwaches mit Meerschweinchenserum und kein Anaphylatoxin mit Kaninchen- und Hundeserum.
3. Inulin hat mit Rattenserum die gleichen anaphylatoxinbildenden Eigenschaften wie Dextran, mit Meerschweinchenserum deutlich stärkere als Dextran.
4. Inulin und mit Rattenserum gewonnenes Inulinanaphylatoxin erzeugen bei der Ratte weder Ödeme noch Histaminvermehrung im Plasma.
5. Die artspezifisch begrenzte Empfindlichkeit der Ratte für Dextran kann wegen der Unempfindlichkeit der Ratte für Anaphylatoxin nicht auf intermediär gebildetes Anaphylatoxin zurückgeführt werden.
6. Polyvinylpyrrolidon, welches nur beim Hund, nicht bei Ratte und Meerschweinchen eine Histaminvermehrung im Plasma bedingt, bildet mit Hundeserum kein Anaphylatoxin.
7. Polyvinylpyrrolidon, nicht Dextran, verstärkt den inversen Schock des Meerschweinchens durch heterogenetisches Antiserum.

Literatur.

ANREP, G. v., G. S. BARSOUM, M. TALAAT and E. WIENINGER: *J. of Physiol.* **96**, 130 (1939). — BINET, L., et M. BURSTEIN: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **143**, 808 (1949). — BRIOT, M., et B. N. HALPERN: *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **146**, 15, 21 (1952). — BRÜGGEMANN, W., u. F. HAHN: *Ärztl. Wschr.* **1949**, 403. — CLERC, J. L.: *Rev. thérapeutique* **11** (1948). — DALE, H. H., and C. H. KELLAWAY: *Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond., Ser. B.* **211**, 273 (1922). — DAVES, K., u. A. BECKEL: *Großzahlforschung*, Weinheim: Verlag Chemie 1948. — DOMENJOZ, R.: *Schweiz. med. Wschr.* **1952**, 1023. — DOERR, R.: *Hdbuch. d. norm. u. path. Phys.* **13**, 650 (1929). — EDLUND, T., B. LÖFGREN and L. VÄLI: *Nature (Lond.)* **170**, 125 (1952). —

FRIEDBERGER, E.: Z. Immun.forsch. **2**, 208 (1909). — GIERTZ, H., and F. HAHN: Internat. Arch. Allergy a. applied Immun. (im Druck). — GRÖNWALL, A., u. B. INGELMAN: Acta physiol. scand. (Stockh.) **7**, 97; **9**, 1 (1944—45); Nature (Lond.) **155**, 45 (1945). — HAHN, F.: J. of Pharmacol. **110**, 24 (1954). — Naturwissenschaften (im Druck). — HAHN, F., u. A. WELLMANN: Klin. Wschr. **1952**, 998. — HAHN, F., u. A. OBERDORF: Z. Immun.forsch. **107**, 528 (1950). — HALPERN, B. N., et M. BRIOT: C. r. Soc. Biol. Paris **146**, 1552 (1952). — HANZLIK, P. J., and H. T. KARSNER: J. of Pharmacol. **14**, 425 (1920); **23**, 173, 243 (1924). — HECHT, G., u. H. WEESE: Münch. med. Wschr. **1943**, Nr. 1. — HEHRE, E. J., J. Y. SUGG and M. NEILL: Ann. New York Acad. Sci. **55**, 467 (1952). — HEILMEYER, L., F. HAHN u. H. SCHUBOTHE: Klin. Wschr. **1947**, 193. — INGELMAN, B.: Acta chem. scand. (Copenh.) **1**, 731 (1947). — JECKELN, E.: Virchows Arch. **322**, 529 (1952). — KABAT, E. A.: National Research Council 1952. — LOUBATIÈRES, A.: C. r. Soc. Biol. Paris **142**, 1342 (1948). — MORRISON, J. L., A. P. RICHARDSON et W. L. BLOOM: Arch. internat. Pharmacodynamie **88**, 98 (1951). — NOVY, F. G., and P. H. DE KRUIF: J. Inf. Dis. **20**, 589 (1917). — PAUTRIZEL, R., et A. PAUTRIZEL-BEZIAN: C. r. Soc. Biol. Paris **144**, 1167 (1950). — PULASKI, E. J.: Chem. a Engineering News **30**, 2187 (1952). — ROCHA E SILVA, M., O. BIER and M. ARONSON: Nature (Lond.) **168**, 465 (1951). — ROCHA E SILVA, M., and M. ARONSON: Brit. J. Exper. Path. **33**, 577 (1952). — ROCHA E SILVA, M.: Reacoes inesperadas em Farmakologia, Sa Paulo 1952. — Brit. Med. J. **1952**, 779. — SEELEY, F., and E. J. PULASKI: Amer. J. Surg. **85**, 382 (1953). — THORSEN, G.: Lancet **1949**, 1, 132. — VOORHEES, A. B., H. J. BAKER and E. J. PULASKI: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**, 254 (1951). — WARREN, J., J. C. FEDES and J. F. KENT: Bacter. Proc. p. 93 (1952).

Professor Dr. F. HAHN, Düsseldorf, Pharm. Inst. d. Med. Akademie.